COUNTWAY LIBRARY
HC 2MSW R

A. Böhm und A. Oppel

Taschenbuch der mikroskopischen Technik

Fünfte Auflage

München und Berlin.
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.

FROM
PAUL B. HOEBER
MEDICAL BOOKS
230 E. 50TH ST., N.Y.

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

TASCHENBUCH
der
Mikroskopischen Technik.

Kurze Anleitung
zur mikroskopischen Untersuchung der Gewebe und Organe
der Wirbeltiere und des Menschen
unter Berücksichtigung der embryologischen Technik.

Von
Dr. Alexander Böhm und **Dr. Albert Oppel,**
Prosektor. a. o. Professor.

Mit einem Beitrag (Rekonstruktionsmethoden) von Prof. Dr. G. BORN.

Fünfte durchgesehene und vermehrte Auflage
von
Alexander Böhm.

München und **Berlin.**
Druck und Verlag von R. Oldenbourg.
1904.

3.J.97.

Vorwort zur dritten Auflage.

Die Brauchbarkeit des nunmehr in dritter Auflage vorliegenden Büchleins haben wir dadurch zu erhöhen gesucht, daß wir an passenden Stellen literarische Nachweise eingeschaltet haben. Letztere sind so gewählt, daß sie entweder die Quellen selbst oder solche Schriften anführen, aus welchen der Lernende näheres über die im Buche erwähnten Methoden erfahren kann. — Die den Autorennamen im Texte beigefügte Zahl weist auf das Jahr hin, in welchem die Arbeit erschienen ist (da wir nur mit Arbeiten aus diesem Jahrhundert zu tun haben, genügten die beiden Endstellen). Hierdurch wird möglich, im Literaturverzeichnis, für welches dieselbe Bezeichnungsweise gewählt wurde, die betreffende Abhandlung leicht aufzufinden. Waren mehrere Aufsätze desselben Autors aus demselben Jahre zu berücksichtigen, so haben wir dieselben durch Beifügung von a, b etc. zu der Jahreszahl unterschieden.

München, im Juli 1896.

Alexander Böhm. Albert Oppel.

Vorwort zur vierten Auflage.

Seit dem Erscheinen der dritten Auflage unseres Taschenbuches sind drei vorzügliche technische Werke erschienen und zwar von A. Fischer (99), von P. Mayer (Lee und P. Mayer 98) und das leider nicht vollendete von S. Apáthy (96), welche wir an passenden Stellen berücksichtigt haben. Manche kleinere Bemerkungen dieser Autoren haben wir auch ohne besondere Namensnennung in die neue Auflage eingesetzt. Da auch sonst die Fortschritte, welche die Technik in den letzten Jahren gemacht hat, berücksichtigt und der Umfang des Büchleins doch

nicht zu groß werden sollte, haben wir den das Mikroskop behandelnden ersten Abschnitt in dieser Auflage gestrichen. Wir verweisen auf die diesen Gegenstand behandelnden, im Literaturverzeichnis aufgeführten Werke von Ambronn (92), Czapski (93), Dippel (82 und 98), Neuhauss (98), Petri (96) und A. Zimmermann (95). Das Kapitel »Rekonstruktionsmethoden«, dessen Schwäche in der alten Auflage wir nicht verkannten, haben wir Herrn Professor Dr. G. Born gebeten, zu bearbeiten, und derselbe hat die große Liebenswürdigkeit gehabt, unserer Bitte zu entsprechen.

München, im März 1900.

Alexander Böhm. Albert Oppel.

Vorwort zur fünften Auflage.

Die vorliegende fünfte Auflage habe ich allein besorgt. Das von dem verstorbenen Professor G. Born verfaßte Kapitel, welches die Rekonstruktionsmethoden im allgemeinen behandelt, habe ich unverändert gelassen.

Die Technik hat gerade in den letzten Jahren so viele wertvolle Beiträge zu verzeichnen, daß ich nicht nur auf die Neuaufnahme von manchen an sich ganz beachtenswerten Einzelheiten verzichten mußte, sondern sogar gezwungen war, um das »Taschenbuch« nicht allzu voluminös werden zu lassen, Verschiedenes aus der früheren Auflage zu streichen.

München, im Oktober 1904.

Alexander Böhm.

INHALT.

pag.

Allgemeiner Teil . . . . . 1—85

1. Kapitel. Fixation für allgemeine Zwecke 6
2. » Durchtränkung 20
   mit Paraffin 21
   mit Zelloidin 25
   mit Zelloidin-Paraffin 27
3. » Mikrotom 28
   Ranviers Mikrotom 28
   Jungsches Mikrotom (Schlittenmikrotom nach Thoma 29
   Schanzes Mikrotom 31
   Weitere Mikrotome 32
4. » Weiterbehandlung des Schnittes 36
5. » Aufkleben 38
   von Paraffinschnitten 39
   von Zelloidin-Paraffinschnitten 43
   von Zelloidinschnitten 43
6. » Paraffinbefreiung 46
7. » Einschließen 47
8. » Die Färbung 51
   Karminfärbung 55
   Hämatoxylinfärbung 58
   Teerfarbstoffe 64
   Kernfärbung mit Teerfarbstoffen 66
   Mehrfachfärbung 67
9. » Rekonstruktionsmethoden, von Professor Dr. G. Born in Breslau 75

pag.

Spezieller Teil . . . . . 86—232

1. Kapitel. Zelle 86
2. » Epithelien und Endothelien 92
3. » Blut und Lymphe 96
4. » Bindegewebe und Fett 109
5. » Knorpel 118
6. » Knochen und Zähne 120
7. » Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel 132
8. » Rückenmark, Gehirn und Ganglien 148
9. » Herz, Blutgefäße und deren Verteilung, Lymphgefäße und Saftkanäle 170
10. » Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark . . . 174
11. » Darm und Drüsen 178
12. » Leber 185
13. » Atmungsorgane; Thyreoidea und Thymus . . 190
14. » Niere und Harnwege; Nebenniere 193
15. » Geschlechtsorgane 196
16. » Embryologische Technik 201
17. » Haut, Haare, Nägel und sensible Nervenendigungen in der Haut 218
18. » Auge 224
19. » Ohr 230
20. » Nase 231

Literaturverzeichnis 233
Autorenregister 253
Sachregister 258

Berichtigung.

Seite 59, Zeile 7 von oben, soll es heißen: 1% Hämatoxylinlösung in 70% Alkohol statt: 1% wässerige Hämatoxylinlösung.

Allgemeiner Teil.

1. Es gibt eine Reihe von Organen und Geweben, welche ohne weiteres im **frischen** Zustande (d. h. von einem lebenden oder soeben getöteten Tiere entnommen, ohne vorher mit irgend einem Reagens in Berührung gekommen zu sein) auf einen Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden können. Solche sind beispielsweise die Blutkörperchen, dünne Platten, wie Mesenterium, Omentum; dünne, durchsichtige Nerven, Blutgefäße, Knorpelstücke, Haare usw.; abgestoßene oder abgeschabte Zellen (Epithelien der Mundhöhle), Spermatozoen, Eier und ähnliches.

2. Die handlichste Größe der Objektträger (Glasplatten von Rechteckform) ist das englische Format 76:26 mm; Deckgläschen (meist 0,1—0,2 mm dicke Glasplättchen) halte man in mindestens zwei Größen vorrätig.

3. Das Töten der Tiere erfolgt zweckmäßig bei Luftatmern durch Einatmenlassen von Chloroform (indem man die Tiere etwa mit einem mit Chloroform getränkten Wattebausch unter eine Glasglocke oder in eine luftdicht schließende Kiste verbringt) oder durch Kopfabschneiden unter eventueller Zerstörung des Gehirns und Rückenmarks. Wasseratmer werden in mit Chloroform geschütteltes Wasser verbracht.

4. Bei einigen Tieren, z. B. beim Frosch, kann man an einem noch lebenden Tiere zahlreiche Organe, resp. Gewebe, beobachten (Lunge, Mesenterium, Zunge, Haut, Pigmentzellen, Nerven, Blutgefäße, Blut usw.); bei demselben Tiere kann man z. B. an einer ausgebreiteten Harnblase glatte Muskeln, Epithelien etc. beobachten.

Andere Organe lassen sich durch verhältnismäßig geringe Eingriffe frisch in Stücke zerlegen, die ohne weiteres beobachtet werden können. Es lassen sich beispielsweise mit Leichtigkeit Sehnen und Muskeln durch Zupfen in Fasern und sog. Fibrillen zerlegen.

5. Beim **Zupfen** bediene man sich zweier in Griffen befestigter Nadeln. Handelt es sich um ein Objekt, welches in der Längsrichtung gefasert werden soll, so lege man dasselbe auf einen Objektträger, setze eine Nadel an einer Stelle des Stückes auf und zerfasere mit der andern das Objekt, indem man dieselbe zur Längsrichtung des Objekts senkrecht bewegt. Die Nadeln müssen stets rein und spitz sein.

6. Einige Gewebe sind so konsistent, daß man sie mit einem gewöhnlichen Rasiermesser schneiden und in dieser Weise dünne, durchsichtige Lamellen gewinnen kann. Das **Schneiden mit dem Rasiermesser** erfordert Übung, um gute Resultate zu geben. Doch kommt man rascher zum Ziele, wenn man von Anfang an bestimmte Regeln beobachtet.

Man schneide gegen sich (nicht von sich). Man schneide stets ziehend, d. h. so, daß man mit einer Stelle des Messers zu schneiden beginnt, aber nicht mit dieser Stelle das Stück durchschneidet, sondern die Klinge während des Schneidens ihrer Längsrichtung parallel am Stück vorbeizieht.

Man schneide stets feucht, d. h. das Stück, welches geschnitten wird, darf nicht trocken sein, und die Klinge muß mit einer geeigneten Flüssigkeit vor jedem Schnitt befeuchtet werden.

Eine ungezwungene Handhaltung ist erforderlich. Man fasse das geöffnete Rasiermesser von oben mit dem Daumen auf der der Schneideseite entsprechenden Partie des Griffs und des anliegenden Messereinsatzes, mit dem Zeige- und Mittelfinger auf dem der Rückenseite entsprechenden Teil.

Das Stück, welches geschnitten werden soll, fasse man fest zwischen die drei ersten Finger der andern Hand, halte dieselbe so, daß der gekrümmte Zeigefinger parallel der Tischebene steht; man kann nun beim Schneiden den Messerrücken auf den Zeigefinger aufstützen.

Zum Halten des Präparats, wenn es kleine Stücke sind, kann man Hollundermark oder in Alkohol gehärtete Leberstücke verwenden.

Zuerst lerne man, kleine, aber möglichst dünne Schnitte machen, dann erst größere.

7. Wohlgeschliffene und gut abgezogene Messer sind das erste Erfordernis für gutes Schneiden. Schneiden und Abziehen lernt man leichter und besser durch das Sehen. Das Rasiermesser muß vor dem Gebrauch auf dem Streichriemen abgezogen werden. Hierbei lege man das Rasiermesser mit seiner ganzen Fläche auf den Riemen und ziehe

es mit dem Rücken voran über denselben weg, indem man allmählich während eines Zuges die ganze Länge des Messers mit dem Riemen in Berührung kommen läßt, zuerst die dem Griff nahe Partie, dann die Spitze. Nun wende man das Messer, ohne es wegzunehmen, über den Rücken und verfahre zurück ebenso mit der andern Seite, und so fort.

8. Durch frische, kompakte Organe, wie Niere, Speicheldrüsen etc., lassen sich mit dem Rasiermesser einigermaßen gute Schnitte bei großer Übung herstellen, die aber dick auszufallen pflegen.

Dünnere, durchsichtige Lamellen durch solche Gewebe lassen sich eher mit einem sogenannten **Doppelmesser** anfertigen.

9. Das **Doppelmesser** besteht in der Regel aus zwei Messerklingen an einem Heft; die parallel gestellten beiden Klingen liegen einander an, so daß sie sich an der Spitze berühren und nahe dem Heft etwas weiter voneinander entfernt sind. Durch eine Schraube können die beiden Messer einander mehr oder weniger genähert werden. Wird die Schraube gelöst, so kann das eine Messer an einem Scharnier aufgeklappt werden. Für feine Schnitte kommt nur die Stelle des Messers in Betracht, an der die beiden Klingen sich sehr nahe stehen, ohne sich jedoch zu berühren.

Geschnitten wird, indem man mit dem benetzten Doppelmesser rasch ziehend ein Organ, z. B. frische Leber, durchschneidet. Dasselbe zerfällt dann in zwei Teile und in eine feine, zwischen den beiden Klingen befindliche Scheibe. Diese entnimmt man, indem man die Klingen durch Lösen der Schraube und Aufklappen der einen Klinge unter geeigneter Flüssigkeit voneinander entfernt.

10. Will man frische überlebende Organe längere Zeit möglichst unverändert beobachten, so gebraucht man als **Zusatzflüssigkeit** sogenannte indifferente Lösungen, d. h. solche, in welchen erfahrungsgemäß die zu untersuchenden Elemente sich nur wenig verändern. — Es ist aber sicher, daß auch bei diesen sogenannten indifferenten Flüssigkeiten von einer Erhaltung der Elemente, wie im Leben, nicht die Rede ist. Als indifferente Lösungen wendet man an:

11. Humor aqueus, Lymphe, Gewebsaft desselben Tieres;

12. die physiologische Kochsalzlösung; man versteht darunter eine ca. $^3/_4$ %ige wässerige Lösung. Isotonisch mit dem menschlichen Blutserum ist die 0,9 %ige,

mit dem des Frosches die 0,64%ige Lösung. (Engelmann E., Hamburger H.

13. Das sogenannte M. Schulzesche (64) Jodserum (Amnios-Flüssigkeit bis zur Sättigung mit Jod versetzt; ein Gewichtsteil Jod löst sich in 7000 Wasser);

14. Jod-Jodkalium nach Ranvier:

100 Wasser,
2 Jodkalium und
Jod bis zur Sättigung;

15. Kroneckersche Flüssigkeit:

destilliertes Wasser	100 g
Chlornatrium	6 »
Natriumkarbonat	0,06 »

16. Die Flüssigkeit von Ripart und Petit:

Kupferchlorid	0,3 g
Kupferacetat	0,3 »
Kampferwasser	75 ccm
dest. Wasser	75 »
Eisessig	1 »

Das Ganze ist unmittelbar nach der Mischung trüb, klärt sich aber nach ein paar Stunden und muß dann filtriert werden.

17. Die meisten Organe lassen sich im frischen Zustande nicht in dünne Lamellen, weder mit dem Rasier-, noch Doppelmesser, zerlegen; entweder sind sie zu hart, z. B. infolge des Kalkgehaltes, wie Knochen, Zähne, und werden durch Entkalken schnittfähig gemacht, oder sie müssen geschliffen werden, oder sie sind zu wenig konsistent. Will man letztere in dünne Lamellen zerlegen, so muß man denselben eine Konsistenz verleihen, die das Schneiden ermöglicht.

Am besten läßt man solche Organe gefrieren oder kleinere Stücke trocknen und schneidet sie dann. Ersteres verdient den Vorzug, da das Trocknen eine zwar sehr einfache, aber sehr rohe Methode ist. Im letzteren Falle untersucht man die Schnitte, indem man denselben Wasser zusetzt, bis sie ihr ursprüngliches Volumen annähernd erreicht haben.

18. Man kann aber die Objekte auf eine andere Weise durch Wasserentziehen, resp. Koagulieren des Eiweißes, härten, nämlich durch **Alkohol.** Man wendet die **Alkoholhärtung** entweder in der Weise an, daß man die nicht zu großen Organstücke erst mit schwachen und dann mit stärkeren Alkohollösungen behandelt (für ein 1 ccm großes Stück mit 50-, 70-, 90%igem Spiritus je 24 Stunden), oder, wenn die Stücke sehr klein sind, nicht über ein paar Millimeter

Prozentgehalt des verdünnten Alkohols.

Prozentgehalt des zu verdünnenden Alkohols.	95°	90°	85°	80°	75°	70°	65°	60°	55°	50°	45°	40°	35°
90°	6,50												
85°	13,36	6,56											
80°	20,16	13,79	6,83										
75°	29,66	21,89	14,48	7,20									
70°	39,16	31,05	23,14	15,35	7,64								
65°	50,66	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15							
60°	63,16	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76						
55°	78,36	67,87	57,90	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47					
50°	96,36	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	10,35				
45°	117,86	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	22,90	11,41			
40°	144,86	130,80	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	38,46	25,55	12,8		
35°	178,86	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	58,31	43,59	27,6	14,3	
30°	224,4	206,22	188,6	171,1	154,3	136,04	118,9	101,7	84,5	67,5	50,6	33,4	16,8

Beispiel: Man hat 90%igen Alkohol und wünscht 70%igen zu erhalten: Man suche die Vertikalreihe des 90%igen Alkohols, verfolge dieselbe abwärts bis zur Horizontalreihe des 70%igen Alkohols; an dieser Kreuzungsstelle findet man die Zahl 31,05; man muß also 31,05 ccm Wasser zu 100 ccm 90%igen Alkohol hinzusetzen, um 70%igen zu erhalten.

Wir entnehmen diese Tabelle E. de Rouvilles Übersetzung des Taschenbuches ins Französ. 2. Aufl. 1897.

im kleinsten Durchmesser, indem man sie direkt mit 90%igem Spiritus und bei den allerkleinsten unter 1 mm mit absolutem Alkohol härtet.

19. Wir geben nebenstehende Tabelle, welche anzeigt, wieviel Kubikzentimeter destilliertes Wasser man 100 ccm Alkohol von bestimmtem Prozentgehalt hinzuzufügen hat, um einen schwächeren zu erhalten.

20. An frischen Objekten und ungefärbten Gefrierschnitten sieht man zwar viele Dinge gar nicht, weil im frischen Zustande die Verschiedenheit des Lichtbrechungsvermögens der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas eine sehr geringe ist. Man sieht aber anderseits vieles, was sich an gewöhnlichen stark aufgehellten Dauerpräparaten ganz der Beobachtung entzieht, da sie deutlich nur schwach lichtbrechende und gefärbte Elemente im Präparat erkennen lassen.

Beim Gefrieren kommt es, wie Key und Retzius (82) nachgewiesen haben, durch die sich bildenden Eiskristalle zu Zerreißungen, die beim Auftauen des Schnittes nicht ganz ausgeglichen werden.

Pleuge (96) empfiehlt, die Stücke vor dem Gefrierenlassen mit Formol zu fixieren (es kann schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde geschnitten werden), für Schnelldiagnosen.

Die Härtung mit Alkohol ist ebenfalls für die Erhaltung feiner Strukturen nicht immer geeignet, ja in sehr vielen Fällen, z. B. für Kerne, Nerven, Fett, ganz unbrauchbar.

In folgendem beschäftigen wir uns mit der Angabe von Methoden, welche die Einsicht in die Struktur massiger Gewebe und Organe erlaubt, wobei die Strukturverhältnisse einigermaßen erhalten bleiben und den im Leben bestehenden nach Möglichkeit nahe kommen.

1. Kapitel.

Fixation für allgemeine Zwecke.

21. Wir verstehen darunter jene Fixationsmethoden, die auf viele, ja manche auf alle Organe mit gleichem Erfolge angewandt werden. Sie leisten, auf verschiedene Organe angewandt, nicht gleich Gutes, erlauben aber einen Einblick in den allgemeinen Aufbau der Organe.

Die **Fixierung** geschieht in der Regel in der Weise, daß man einem frisch getöteten Tiere entnommene Stücke in bestimmte Flüssigkeiten, sogenannte Fixierungsflüssigkeiten,

legt. Die Größe der einzulegenden Stücke ist eine verschiedene, je nach dem Gewebe und dem Diffusionsvermögen der Fixierungsflüssigkeit. Ist die Dicke des Stückes eine geringe, so kommt die Länge und Breite nicht in Betracht; Beispiel: dünne Membranen, da solche von Fixierungsflüssigkeiten rasch durchdrungen werden. Die Stückgröße kann demnach eine beliebige sein, wenn die kleinste Seite des Stückes die im folgenden stets angegebene Größe nicht überschreitet. Um die Einwirkung der Fixierungsflüssigkeit von allen Seiten her zu ermöglichen, ist es notwendig, den Boden der Gefäße mit Glaswolle, Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf erst die Stücke zu legen. Die Diffusion in die zu fixierenden Stücke geht sehr langsam vor sich, deshalb belasse man die Objekte, wenn sie größer sind, längere Zeit in den Fixierungsflüssigkeiten. In nachfolgendem sind meist minimale Zeiten angegeben.

22. Stets hat man bei der Fixierung im Auge zu behalten, daß die Flüssigkeiten die Objekte nicht in dem Zustand zu erhalten vermögen, in welchem sie im Leben sind; vielmehr sehen wir ganz veränderte Verhältnisse und suchen aus diesen auf diejenigen zu schließen, welche im Leben herrschen.

Obwohl nur die relativ gröberen Verhältnisse durch die Fixierungsflüssigkeiten erhalten werden, spricht man doch von der Konservierung eines Objektes. — Auch ist zu beachten, daß durch die verschiedenen Reagentien die Strukturverhältnisse in ganz verschiedener Weise verändert werden.

23. Die gröberen Veränderungen, welche die Objekte in den Fixierungsflüssigkeiten und bei der folgenden Nachbehandlung erleiden, lassen sich häufig schon äußerlich an der Änderung in Gestalt, Größe und Farbe des Objektes erkennen. So kann z. B. die Schrumpfung (infolge der Behandlung entstehende, mit einer Volumverminderung verbundene Gestaltveränderung) eines groben Objektes, bis dasselbe fixiert, nachbehandelt, gefärbt, durchtränkt, geschnitten und eingeschlossen fertig zur Untersuchung kommt, 20% (bei zarten Objekten, z. B. manchen Embryonen bis zu 40%) der ursprünglichen Größe betragen, bei relativ guter Konservierung mikroskopischer Strukturen (s. Tellyesniczky 02).

24. Bei der Fixierung spielt Fällung der Eiweißkörper durch die Fixierungsmittel eine wichtige Rolle. Die »Fällungskraft« zahlreicher Fixierungsmittel hat A. Fischer (99) an verschiedenen Eiweißkörpern untersucht, von denen er folgende drei herausgreift: 1. Nukleinsäure (aus Hefe), 2. Deuteroalbumose, 3. Serumalbumin. Die erstere wurde gewählt wegen ihrer engen Beziehungen zum Chromatin, die Albumose könnte vielleicht als Verdauungsprodukt in gewissen Geweben erscheinen, das Serumalbumin charakterisiert die beiden großen, fixierungstechnisch übereinstimmenden Gruppen der Albumine und Globuline, überhaupt die Gerinnselbildner. Nach dem spezifischen Verhalten dieser Eiweißkörper zu den Fixierungsmitteln und nach der Löslichkeit oder Unlöslichkeit der Niederschläge in Wasser gruppieren sich die wichtigsten Fixierungsmittel folgendermaßen:

I. Nukleinsäure wird nicht oder nur durch starke Konzentration gefällt, Deuteroalbumose wird gar nicht, Serumalbumin sowohl aus alkalischen, als saueren Lösungen gefällt.

Salpetersäure, Essigsäure und damit gesäuerter Alkohol. Unzuverlässige Fällungsmittel, die im Überschuß oft wieder lösen.

II. Nukleinsäure wird gar nicht, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden nur aus sauren, nicht aus alkalischen (oder neutralen) Lösungen gefällt. Die Niederschläge sind unlöslich.

Osmiumsäure, Kaliumbichromat, Altmanns Gemisch, Müllersche Flüssigkeit.

III. Nukleinsäure, Deuteroalbumose und Serumalbumin werden bei jeder Reaktion gefällt.

1. Die Fällung der Nukleinsäure und der Deuteroalbumose ist in Wasser leicht löslich; Serumalbumin wird koaguliert.
   Alkohol, Aceton, Pikrinsäure, Pikrin-Schwefelsäure.
2. Alle Fällungen in Wasser unlöslich.
   Chromsäure, Sublimat, Platinchlorid, Formaldehyd, Flemmingsche Flüssigkeit (Chrom-Osmium-Essigsäure), Hermannsche Flüssigkeit (Platinchlorid-Osmium-Essigsäure).

Hier würden sich noch die meisten Gemische anschließen, z. B. Chrom-Essigsäure, Chrom-Ameisensäure, Chromsäure-Platinchlorid, Sublimat-Essigsäure, kurz alle, die mit Chromsäure oder Sublimat oder Platinchlorid versetzt sind, wenn auch die andere Komponente zu Gruppe I, II oder III gehört.

Eingehend bespricht Fischer (99) auch die Bedeutung des Umstandes, daß Eiweißkörper, welche durch Fixierungsmittel mit geringer Fällungskraft nicht gefällt wurden, bei der Nachbehandlung durch Alkohol gefällt werden können, so daß das schließliche Resultat oft weniger der angewandten Fixierungsflüssigkeit, als der Nachbehandlung zuzuschreiben ist.

Wenn auch nicht alle Beobachtungen Fischers an Eiweißkörpern in vitro ohne weiteres auf die lebende Zelle übertragen werden dürfen, so enthalten sie doch das erste methodische Studium der Fixierungsmittel und lehren auf jeden Fall soviel, daß nicht sämtliche in der Zelle nach Einwirkung von Fixierungsmitteln sichtbare Strukturen, insbesondere jedes Körnchen, auch schon im Leben vorhanden waren. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß alle Strukturen in fixierten Objekten Kunstprodukte, Gerinnungserscheinungen sind; wir können vielmehr behaupten, daß eine große Anzahl Differenzierungen des Protoplasmas und des Kernes, welche wir direkt im Leben zu beobachten im stande sind (Flemming 82), durch gewisse Fixierungsmittel erhalten werden. A. Fischer hat uns den Weg gezeigt, wie man experimentell vorgehen muß, wenn man die nach der Einwirkung von Fixierungsflüssigkeiten auftretenden Bilder auf die im Leben bestehenden beziehen will.

Wir schildern der Reihe nach die heute gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten. Vgl. Tellyesniczky, 98 und 02.

25. Alkohol, angewendet in der in § 18 geschilderten Weise, namentlich in stärkeren Konzentrationen (90%ig, absolut), kann, wenn es sich nicht um feinere Strukturverhältnisse handelt, auch als Fixierungsflüssigkeit dienen.

26. Nach Fischer 99 wird der Alkohol infolge seiner großen allseitigen Fällungskraft und der Koagulierung der meisten Eiweißkörper wohl geeignet sein, dauerhafte Niederschläge zu bilden, während er anderseits vollkommen untauglich ist, aus Albumosen und Nukleinsäure bestehende, im Leben noch ganz oder halb gelöste Bestandteile der Zelle in den Präparaten zu erhalten.

27. Ein sehr auffälliges Kunstprodukt nach der Alkoholbehandlung soll hier erwähnt werden: das Protoplasma und die Kernsubstanz entfernen sich innerhalb der Zelle möglichst weit von der Oberfläche des in Spiritus fixierten Stückes und werden in der sonst leeren Zelle wandständig (»die Flucht des Inhaltes der Zelle gegen den Mittelpunkt des Stückes«, Tellyesniczky 98). Diese Veränderungen sind an der Peripherie des Objektes am auffallendsten.

28. Chromsäure, gegenwärtig allein selten gebraucht, wird meistens in einer $^1/_3$- bis $^1/_2$%igen wässerigen Lösung angewandt. Die zu fixierenden Stücke, je kleiner, desto besser, nicht über 1 cm im kleinsten Durchmesser betragend, werden in sehr viel Chromsäure, mindestens 50mal mehr Flüssigkeit, als wie das Volumen des zu fixierenden Stückes beträgt, auf 24 Stunden gelegt. Bei größeren Stücken kann die Flüssigkeit nach 24 Stunden gewechselt werden und

das Stück in einer frischen, ebenso starken oder etwas stärkeren, etwa $^1/_2$ %igen, abermals 24 Stunden und länger verbleiben. Die Stücke werden nun ausgewässert, und zwar in großen Mengen Wassers, das oft gewechselt wird, oder noch besser im fließenden Wasser. Das Auswaschen dauert mindestens 24 Stunden; es sollen die Stücke nach dem Auswaschen möglichst wenig von der gelben Chromfarbe mehr besitzen.

Aus dem Wasser kommen die fixierten, fast farblosen Stücke auf 24 Stunden in 70%igen Spiritus, um nach 24 Stunden in 90%igen Spiritus übertragen zu werden. Die Menge des zu benutzenden Spiritus muß mindestens das Volumen des Stückes 50mal überschreiten. Letztere Operationen werden im Dunkeln vorgenommen.

Die Chromsäure wurde zuerst von Jacobson und Hannover (40) als Fixationsflüssigkeit empfohlen und wurde eine Zeitlang sehr allgemein benutzt; sie fixiert die chromatischen Substanzen des Kernes ziemlich gut. Den Gebrauch von dünnen Lösungen führte Max Schultze ein.

Die Chromsäure geht mit Eiweiß und Leim schwerlösliche Verbindungen ein und wird deshalb als Fixierungsmittel gebraucht. v. Tappeiner (90).

29. Das **doppelt chromsaure Kalium** (Synonyme: saures chromsaures Kalium, dichromsaures Kalium) in von 2 auf 5% ansteigender (d. h. zuerst in 2%iger, beim Wechseln 3%iger, dann 4 etc. %iger) wässeriger Lösung, die Müllersche und Erlickische Flüssigkeit kommen bei der Untersuchung verschiedener Organe in Anwendung. Das Kalium bichromicum und die Müllersche Flüssigkeit werden ziemlich in gleicher Weise benutzt, aber, wie gesagt, Kalium bichromicum in ansteigender Konzentration. Auch hier empfiehlt sich Behandlung im Dunkeln.

30. Die **Müllersche** (59) **Flüssigkeit** besteht aus
2 bis $2^1/_2$ g Kalium bichromicum,
1 g Natrium sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Nicht allzu große Stücke werden in diesen Flüssigkeiten sehr lange Zeit im Dunkeln fixiert; in der ersten Woche wird die Flüssigkeit alle zwei Tage gewechselt, später jede Woche zweimal; mitteldicke Objekte, wie z. B. Rückenmark des Menschen, brauchen mindestens 6—8 Wochen.

Das Originalrezept lautet: »Ich wende hierzu meist eine Flüssigkeit an, welche doppelt chromsaures Kali und schwefel-

saures Natron enthält, von jedem etwa $1^1/_2\,\%$ oder von dem einen etwas mehr, von dem andern weniger. Dazu setzt man noch etwas Chromsäure, je nachdem man mehr oder weniger erhärten will.« Müller H. (59).

31. Beträchtlich kürzere Zeit bei ziemlich gleichen Resultaten und bei gleicher Anwendung nimmt die **Erlickische Flüssigkeit** in Anspruch. Sie besteht aus

$2^1/_2$ g Kalium bichromicum,
$^1/_2$ g cuprum sulfuricum und
100 ccm Wasser.

Man wechselt die Flüssigkeit alle zwei Tage. Die Fixierung erfolgt in 3—4mal kürzerer Zeit wie bei der Müllerschen.

32. Tellyesniczky (98) empfiehlt 3%igem Kalium bichromicum 5% Essigsäure zuzusetzen, nur 1—2 Tage zu fixieren, in reichlichem Wasser auszuwaschen und die Nachbehandlung mit 15%igem Alkohol zu beginnen (im Dunkeln).

33. Die Bedeutung des Essigsäurezusatzes zu Kaliumbichromat erhellt aus den Untersuchungen von A. Fischer (99), indem durch Kaliumbichromat zahlreiche Eiweißkörper, namentlich aus alkalischer Lösung, nicht gefällt werden, die alle beim Ansäuern sofort ausfallen. Außerdem diffundiert Essigsäure sehr rasch. Eine ähnliche Rolle spielt die Essigsäure als Komponente anderer Fixierungsflüssigkeiten.

34. Bei diesen langsam fixierenden Flüssigkeiten kommt es klar zum Ausdruck, von welch großem Einfluß die Temperatur ist. Bei höherer Temperatur braucht man nämlich viel kürzere Zeit wie bei der niederen; so kann man mit Erlickischer Flüssigkeit beispielsweise in einem künstlich auf 40° geheizten Raume ein Rückenmark des Menschen in 4—5 Tagen genügend fixieren.

Müllersche Flüssigkeit bei einer Temperatur von 30 bis 40° C. also im Thermostat, fixiert in 8—10 Tagen.

Der Flüssigkeit setze man etwas Kampfer zu gegen Mikroorganismen. Hier, wie überall, mache man es sich zur Regel, den Boden der Gefäße mit Glaswolle, Filtrierpapier oder Watte zu bedecken und darauf die zu behandelnden Stücke zu legen, damit sie von allen Seiten von der fixierenden Flüssigkeit umspült werden.

Für allgemeine Zwecke werden die fixierten Stücke mit oft zu wechselndem, resp. fließendem Wasser, ausgewaschen, bis sie keine Farbe mehr abgeben, 1—2 Tage,

dann in 70%igen Spiritus auf 24 Stunden übertragen, dann in 80%igen.

35. Um die lästigen Niederschläge nach der Fixierung mit Erlickischer Flüssigkeit zu beseitigen, genügt nach Löwenthal ein Einlegen derselben vor Behandlung mit Alkohol in $^1/_2$%ige Chromsäure oder aber in warmes Wasser oder ein schwach mit Salzsäure angesäuertes Wasser (Edinger).

36. Die oben erwähnten Substanzen eignen sich nicht für das Studium der Kerne, da letztere stark angegriffen, und deren Bestandteile zum Teil darin gelöst werden. Diese Flüssigkeiten werden gegenwärtig viel weniger wie früher gebraucht, spielen aber noch heute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems und des Auges, eine wichtige Rolle.

37. Osmiumtetroxyd, Synonyme: Überosmiumsäure. Osmiumsäure, wurde auf Veranlassung von F. E. Schulze von Max Schulze und Rudneff [65] in die Technik eingeführt. Die Osmiumsäure ist sehr teuer, 1 g kostet ca. 7 Mark; sie ist sehr giftig, und die Dämpfe derselben greifen die Schleimhäute stark an. Aus der wässerigen Osmiumsäurelösung bewirken die reduzierenden Agentien (auch Sonnenlicht) das Ausscheiden des metallischen schwarzen Osmiums; dieselbe wird deshalb in schwarzen Flaschen aufbewahrt. Fügt man zu 100 ccm der Lösung 10 Tropfen einer konzentrierten Sublimatlösung, so bleibt sie, auch dem Lichte ausgesetzt, unverändert. (Paul Mayer 01). Die Osmiumsäure ist in hermetisch geschlossenen, gewöhnlich 1 g haltigen Gläsern käuflich.

38. Die Überosmiumsäure wird in einer $^1/_2$- bis 1-, ja 2%igen, wässerigen Lösung angewandt. Gewöhnlich nimmt man eine 1%ige Lösung. Die Osmiumsäure fixiert momentan, dringt aber nicht tief genug in die zu fixierenden Stücke ein; man wähle deshalb möglichst kleine Stücke, denn bei einem größeren werden bloß die an der Oberfläche des Organs gelegenen Zonen etwa $^1/_{10}$ mm tief durch die Osmiumsäure fixiert. Die Osmiumsäure hebt Verschiedenes hervor, indem sie gleichzeitig durch Oxydieren die natürlichen Farben verschiedener Gewebe verschieden verändert. So werden die Kerne schmutzig-gelb, elastische Fasern graubraun, Oleinfett und Nervenmark schwarz etc. In einem sehr gut verschlossenen Glase läßt man die Flüssigkeit etwa 24 Stunden einwirken, man spült die Stücke etwa 2 Stunden, auch länger, mit destilliertem Wasser ab und überträgt dieselben direkt in 90%igen Spiritus, wo sie bis zum weiteren Bearbeiten verbleiben.

39. Die Osmiumsäure wird auch in Dampfform angewandt, namentlich, wenn sehr kleine Gewebsteile oder Organismen sehr rasch getötet werden sollen.

Die Osmiumsäure-Räucherung geschieht so, daß in ein Glas auf den Boden einige Tropfen Osmiumsäure gebracht werden. Man lege das Objekt oder hänge es mit einem Faden in das Glas, so daß das Objekt selbst von der Osmiumsäure nicht berührt wird, und bedecke das Glas mit einem Glasdeckel.

40. Die mit Osmiumsäure fixierten Objekte lassen nach Flemming auch eine Nachfärbung mit Hämatoxylin oder mit Alaunkarmin zu, besonders schön werden Präparate der Retina.

41. Osmiumsäure allein ist nach A. Fischer (99) ein sehr schwaches und unvollständiges Fällungsmittel für Eiweißkörper. Sie erzeugt nur dann Niederschläge in den Zellen (Gerinnungen), wenn sie sauer reagieren; alkalischem Zellinhalt gegenüber wird sie stets versagen. Bei geringem Ansäuern mit Essigsäure fallen die genannten Stoffe sofort in wasserunlöslicher Form aus. Bei der in § 42 erwähnten Flüssigkeit z. B. werden die zu fixierenden Elemente durch die rasch diffundierende Essigsäure angesäuert, bevor die Wirkung der Osmiumsäure zur Geltung kommt.

42. Eine ausgezeichnete Fixierungsflüssigkeit für Kerne und Protoplasmastrukturen ist die **Chrom-Essig-Osmiumsäure-Mischung** von **Flemming**, (82, 84 und 95a). Die Formel für diese heißt:

Chromsäure 1%ig .	15 Vol.
Osmiumsäure 2%ig	4 Vol.
Eisessig	1 Vol.

43. Die Anwendung dieser Flüssigkeit ist eine sehr ausgiebige, und zwar für die Gewebe der erwachsenen und sich entwickelnden Tiere. Man braucht nicht sehr viel von der Flüssigkeit beim Fixieren immer kleiner Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, anzuwenden. Man läßt die Flüssigkeit wenigstens 24 Stunden, besser länger, selbst wochenlang einwirken, wäscht die so fixierten Stücke 24 Stunden in fließendem Wasser aus und überführt sie dann durch 70%igen und 80%igen Spiritus, je 24 Stunden angewendet, in 90%igen Spiritus.

44. Die beste Färbung der Schnitte nach dieser Fixation ist die mit Safranin. Alles das, was mit Safranin bei einer bestimmten Anwendung desselben (bei maximalem Auszug) intensiv rot gefärbt bleibt, wird Chromatin genannt.

45. Eine schwächere, von Flemming angegebene Lösung ist folgende: auf 100 g Wasser:

Chromsäure	$^1/_4$ g
Osmiumsäure	$^1/_{10}$ g
Eisessig	$^1/_{10}$ g

Dieses schwächere Gemisch wird aus dem in § 42 erwähnten, durch Verdünnung mit dem doppelten Volumen Wasser hergestellt; es wird nur selten angewendet.

46. Folsche (84) Mischung:

Osmiumsäure	1 %ig	2 Vol.
Chromsäure	1 %ig	25 »
Eisessig	2 %ig	5 »
Wasser		68 »
		100 Vol.

Anwendung wie die der Flemmingschen Lösung.

47. Hermannsche Mischung. Ebenfalls mit ausgezeichnetem Erfolg wendet man Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig (1 %ige wässerige Platinchlorid-Lösung 15 ccm, 2 %ige Osmiumsäure 4 ccm und Eisessig 1 ccm) an. Behandlung wie mit Flemmingscher Flüssigkeit (Hermann [93]).

Nach dieser, sowie der Flemmingschen Lösung und ähnlichen Osmiumgemischen, kann roher Holzessig in Anwendung kommen. Man läßt die Objekte im letzteren 12—24 Stunden liegen und behandelt mit Alkohol. Es tritt schon hierbei eine eigentümliche Färbung des Objektes ein, welche eine nachträgliche Färbung desselben oft entbehrlich macht (Hermann [93]).

Von den von vom Rath (95) angegebenen Flüssigkeiten erwähnen wir drei:

48. Die Pikrinosmium-Essigsäure. Zu 1000 ccm kalt gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung werden 1 g Osmiumsäure und nach einigen Stunden 4 ccm Eisessig hinzugefügt. Fixierung je nach der Größe des Objektes $^1/_4$—1 oder 24—48 Stunden, dann direkt in 75 %igen Alkohol. Lange färben.

49. Die Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure. Zu 200 ccm wässeriger konzentrierter Pikrinsäure gieße man 25 ccm einer 2 %igen wässerigen Osmiumsäure, ferner 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst und schließlich 2 ccm Eisessig zu (starke Lösung). Will man eine schwache Lösung, so nehme man nur 12 ccm einer 2 %igen Osmiumsäure an Stelle von 25 ccm. Einwirkung je nach Größe des Objektes $^1/_4$ Stunde bis tagelang, im letzteren Fall muß die Flüssigkeit gewechselt werden. Übertragen in 75, dann 95 %igen und absoluten Alkohol nach eventueller 12—24stündiger Behandlung mit unreinem Holzessig. In Safranin und dann Hämatoxilin lange färben, auch ungefärbt untersuchen.

50. Pikrin-Sublimat-Osmiumsäure. Man gebe zu 100 ccm wässeriger Pikrinsäure 100 ccm Sublimatlösung und dann 20 ccm 2%ige Osmiumsäure. Man kann auch noch 2 ccm Eisessig zufügen. Nachbehandlung mit rohem Holzessig oder Tannin, Entfernung von Sublimatniederschlägen mit Jodalkohol. Lange färben.

51. Sublimat (Hydrargyrum bichloratum, Quecksilberchlorid, in dieser Gebrauchsart eingeführt von A. Lang [78]. 1 Teil löst sich in 16 Wasser, oder 4 Alkohol absolutus oder 4 Äther; Lösungen von Sublimat in Wasser sind haltbarer bei Kochsalzzusatz) wird für gewöhnlich in einer gesättigten Lösung angewandt. Man stellt diese am besten folgendermaßen her: Man nehme etwa 75 g Sublimat auf 1000 Wasser und löse es durch Erwärmen, filtriere die warme Lösung und lasse sie erkalten. Haben sich am Boden des kalt gewordenen Gefäßes weiße Kristallnadeln gebildet, so ist die überstehende Flüssigkeit als eine gesättigte zu betrachten. Stücke, nicht über $^1/_3$ cm Seite, werden in dieser Flüssigkeit je nach der Größe 3 bis 24 Stunden fixiert, hierauf mit 70%igem Spiritus 24 Stunden lang behandelt, auf ebenso lange Zeit in 80%igen übertragen und in 90%igem Spiritus bis zur Bearbeitung aufbewahrt. Vor der Behandlung mit Spiritus kann auch kurze Zeit mit Wasser oder besser mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen werden. Da die Lösung eine konzentrierte ist, so kommt es namentlich bei Temperaturschwankungen im Zimmer zur Bildung von Kristallen in den zu fixieren den Stücken. Dabei kommt es nur selten zu bemerklichen Zerreißungen und Dislokationen in den Geweben. Die Kristalle erscheinen bei durchfallendem Lichte schwarz und verdecken so das Darunterliegende; es ist also wünschenswert, diese Kristalle zu entfernen, ohne dabei die fixierten Gewebe irgendwie zu alterieren. Man tut am besten, wenn man kleine Mengen (einige Tropfen auf 100 ccm) einer Jodtinktur P. Mayer [87] (eine gesättigte alkoholische Jodlösung) oder Jodjodkalium in Wasser (s. § 14) zu dem wasserentziehenden Spiritus hinzusetzt. Es darf Jod so lange hinzugesetzt werden, bis die schwachgelbe Farbe der Flüssigkeit nicht mehr schwindet, und zwar kann dieser Zusatz sowohl zu dem 70%igen Spiritus, als zu dem in Folge anzuwendenden erfolgen. Die störenden Sublimatkristalle in den fixierten Stücken (noch besser bei zarten Objekten in Schnitten) werden dadurch entfernt.

Für Sublimat hat man metallene Instrumente zu vermeiden; man verwende z. B. Hornlöffel, Glasnadeln und

Holzstäbchen. Sublimat läßt die meisten Färbungen zu, die Anilinfarben nicht ausgeschlossen; neben den Schnittfärbungen sind besonders die Stückfärbungen mit Boraxkarmin und Parakarmin vor dem Schneiden zu empfehlen.

52. Eine raschere Fixation erhält man bei Anwendung einer auf etwa 40° C erwärmten Sublimatlösung (im Thermostat). Stärkere Erhitzung auf die Koagulationstemperatur des Eiweißes oder gar bis zum Kochen geben auch für kleinere Objekte weniger reine Resultate, da hier mehr die Wärme, als die Wirkung des Sublimats allein zur Geltung kommt.

53. Sublimat-Kochsalzlösung; statt Wasser nehme man 0,75% Kochsalzlösung. Anwendung wie Sublimatwasser.

54. Sublimatalkohol: 3 bis 4 g Sublimat, 0,5 g Kochsalz 100 ccm 50%iger Spiritus, 12 bis 24 Stunden fixieren, dann Alkohol mit Jodzusatz etc. wie oben.

55. Sublimat-Eisessig (Lang). Eine gegenwärtig viel gebrauchte Flüssigkeit, welche für embryonales Gewebe und für wenig Bindegewebe enthaltende Organe Vorzügliches leistet. Man nimmt eine gesättigte wässerige Sublimatlösung und fügt je nach Umständen 5 bis 10% Eisessig hinzu. Nach 2 bis 3 Stunden (auch länger) wird in schwachen Alkohol (35%) übertragen, welcher allmählich durch stärkeren ersetzt wird. Bei größeren Stücken ist die Nachfixierung nach § 51 oder 53 anzuraten.

56. Sublimat-Chromsäure (Lo Bianco). Konzentrierte wässerige Sublimatlösung und 1%ige Chromsäure werden im Verhältnis von 2 Vol. zu 1 Vol. gemischt. Darin wird, je nach der Größe des Objektes, 2 bis 4 Stunden fixiert, dann wird mit Wasser abgespült und in 70%igen Alkohol mit Jodzusatz wie in § 51 übertragen. Nur für kleine Objekte nicht über $^1/_3$ cm im Durchmesser. Die Methode wird für spezielle Zwecke angewandt.

57. Zenkersche Flüssigkeit. Zu 100 ccm Müllerscher Flüssigkeit fügt Zenker (94) 5 g Sublimat und 5 ccm Eisessig. Die Stücke werden in diesem Gemisch mindestens 24 Stunden belassen, mit fließendem Wasser ausgewaschen und allmählich in starken Alkohol überführt. Die Zenkersche Flüssigkeit dringt sehr leicht in die Gewebe und fixiert Kern- und Protoplasmastrukturen gleich gut, ohne hierbei das Färbungsvermögen der Elemente zu beeinträchtigen. Siehe auch Mercier (94).

Helly nimmt statt Eisessig 5 ccm Formol. Seine Flüssigkeit dringt schneller ein, man darf sie aber nicht

länger wie 6 Stunden einwirken lassen und womöglich im Thermostat. Größere Stücke fixiert man mit Müllerscher Flüssigkeit nach. Sorgfältiges Waschen mit gewöhnlichem und dann mit destilliertem Wasser folgt nach.

58. Eine **3—5%ige Salpetersäure** (gemeint ist Acidum nitricum purissimum mit 70% Säuregehalt und mit 1,40 spezifischem Gewicht) auf kleine Stücke angewandt, liefert sehr Gutes. Man fixiere nicht über sechs Stunden und übertrage die Objekte in 70%igen Spiritus, welcher nach 24 Stunden mit 80%igem und nach abermals 24 Stunden mit 90%igem vertauscht wird. Stärkere Säurelösungen, namentlich wenn sie längere Zeit einwirken, greifen das Chromatin stark an.

59. Kalt gesättigte wässerige Pikrinsäure-Lösung (es löst sich ungefähr $^3/_4$ g Pikrinsäure in 100 ccm kalten Wassers) allein kann mit Erfolg für kleinere und auch mittelgroße Objekte als Fixierungsflüssigkeit angewandt werden. Man kann sie je nach der Größe des Objektes einige Tage und selbst Wochen wirken lassen, auswaschen mit Spiritus von 70%. Letztere Prozedur, wenn man sie bis zur Entfärbung der Objekte durchführen will, ist kostspielig. Färbung mit Hämatoxylin, Karmin usw.

Pikrinsäure (allein oder in Kombination mit Überosmiumsäure) wurde zuerst von Gasser (78) empfohlen.

Bei Pikrinsäurefixierung erscheinen, wie angegeben wird, die Zellkonturen, resp. Zellgrenzen, deutlicher.

60. Für Organe, die nicht viel Bindegewebe enthalten, und namentlich für embryologische Zwecke, wendet man die **Pikrin-Schwefelsäure von Kleinenberg** (s. in Foster und Balfour 76) resp. die **Pikrin-Salpetersäure von Paul Mayer** (81), an. Die erstere Flüssigkeit wird in folgender Weise dargestellt: Man nimmt eine gesättigte Pikrinsäurelösung in Wasser und bringt 1 Volumen konzentrierte Schwefelsäure in 100 Pikrinsäure, wobei sich ein reichlicher Niederschlag bildet. Nach 24 Stunden wird filtriert und das Filtrat mit zweifachem Volumen Wasser versetzt.

Die Pikrin-Salpetersäure wird in der Weise bereitet, daß man zu 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäure 2 ccm offizineller Salpetersäure zusetzt; es bildet sich nach und nach ein Niederschlag, der durch Filtrieren entfernt wird. Die so gewonnene Flüssigkeit ist nun zum Gebrauche fertig.

Es werden möglichst kleine Stücke, auf keinen Fall über $^1/_2$ cm Seite in einer der beiden zuletzt genannten Flüssigkeiten nicht viel über 3 Stunden belassen. Die

intensiv gelb gewordenen Stücke kommen in 70%igem Spiritus auf 24 Stunden und werden dann mit oft zu wechselndem 90%igem Spiritus gewaschen, bis die gelbe Farbe fast vollständig verschwindet. Man färbt mit besonderem Erfolg Schnitte, so fixierten Präparaten entnommen, mit Hämatoxylinpräparaten.

61. Pikrinsublimat. Rabl (94) empfiehlt folgendes Gemisch:

konz. wässerige Sublimatlösung . . 1 Vol.
» » Pikrinsäure-Lösung . 1 »
Aqua dest. . . . . 2 »;

Fixierung 12 Stunden; dann ein paar Stunden in Wasser, dann in Alkohol von anfangs schwacher, jedoch rasch ansteigender Konzentration, so daß das Präparat schon nach etwa 24 Stunden in starkem, 80—90%igem Alkohol liegt. Jodtinkturzusatz zum absoluten Alkohol. Speziell für Embryonen, namentlich ältere, auch für Keimscheiben.

Schaffer (96) empfiehlt diese Lösung unverdünnt (also Sublimatlösung 1 Vol., Pikrinsäure-Lösung 1 Vol.) für Gewebe und Organe. Das Auswaschen nach der Fixierung (12 bis 48 Stunden) soll unterbleiben, vielmehr kommen die Stücke direkt in Alkohol, dem man Jodtinktur und Lithionkarbonat zur Entfernung des Sublimats und der Pikrinsäure zufügt.

62. Die Perényische (82) Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung:

Salpetersäure von 10% . . . 40 ccm,
abs. Alkohol . . . . . 30 »
wässerige Chromsäure von ½% 30 »;

sie fixiert kleine Objekte in wenigen Stunden; Auswaschen in 70%igem Spiritus.

Für die Fixation sowohl chromatischer, wie achromatischer Figuren hat Rabl (85) folgende zwei Flüssigkeiten empfohlen:

63. Die Chrom-Ameisensäure wird in der Weise bereitet, daß man zu

100 ccm einer ⅓%igen Chromsäure-Lösung
2—3 Tropfen Ameisensäure

zusetzt. Möglichst kleine Stücke werden, auf 12—24 Stunden in diese Flüssigkeit gebracht, ebenso lange Zeit mit Wasser gewaschen. Dann werden sie in 60 bis 70%igen Spiritus auf 24—36 Stunden übertragen und kommen direkt in absoluten Alkohol. (Die chromatischen Figuren quellen in dieser Lösung etwas auf.)

In analoger Weise für dieselben Zwecke wird eine ⅓%ige Platinchlorid-Lösung angewandt. Sie wird weder durch Licht, noch Wärme reduziert. (Dieses Fixierungsmittel bewirkt eine geringe Schrumpfung in den chromatischen Fäden.)

64. Platinchlorid-Sublimat Rabl (94):

Platinchloridlösung 1%ig	1 Vol.
Sublimatlösung konz. wässerige . .	1 »
Aqua destill.	2 »

Behandlung wie bei Pikrinsublimat (siehe § 61).

Große Quantitäten Fixierungsflüssigkeit! Geeignet besonders für Embryonen.

65. Sehr rasch eindringende Gemische, welche Kernstrukturen gut fixieren, sind: Cornaysche Flüssigkeit, welche aus 10 ccm Eisessig, 60 ccm Alkohol und 30 ccm Chloroform besteht und das Gilsonsche Gemisch: Alkohol, Chloroform und Eisessig zu gleichen Teilen mit Sublimat in konzentrierter Lösung. Die fixierten Objekte werden direkt in starkem Alkohol weiterbehandelt.

66. Formol, eingeführt von F. Blum, dessen Vater und Hermann in die Konservierungspraxis (das käufliche Formol enthält 40% Formaldehyd), wird für mikroskopische Zwecke meist in der Konzentration von 1 Volumen Formol auf 10 Volumina Wasser angewandt. Man läßt die Objekte in Formol 12 Stunden oder länger und überträgt sie in 96%igem Spiritus.

Diese Flüssigkeit eignet sich vorzüglich zur Konservierung für makroskopische Zwecke, da sie die Formen und natürlichen Farben gut erhält. Für histologische Zwecke hat sich diese Lösung nicht so gut bewährt.

Fischer (99) meint, die gebräuchliche Konzentration wäre viel zu schwach und sieht die 25%ige Formollösung als die rationellste an. —

Formol ist auch von Wert, weil Präparate, welche mit der Golgischen oder Weigertschen Methode behandelt werden sollen, in Formol vorher längere Zeit aufbewahrt werden können. In Formol fixierte Objekte eignen sich fürs Schneiden auf dem Gefrier-Mikrotom. Es lassen sich daraus viel dünnere Schnitte wie aus frischen Stücken gewinnen.

67. Betreffend die Darstellung histologischer Feinheiten mit Lysol in 10%iger Lösung (event. Lysol 10, Aq. 60, Alk. 30; oder Lysol 10, Aq. 50, Alk. 30, Glyzerin 10) an frischen Geweben (Spermatozoen, Haare, Auge, Niere, Epithelzellen, glatte und quergestreifte Muskelfasern, Nerven, Bindegewebe, hyaline Knorpel, Knochen, verhornte Epithelien) verweisen wir auf Reinke (93) und A. Fischer (99, pag. 29).

68. Hat man Objekte nach den in diesem Kapitel gegebenen Vorschriften fixiert und nachbehandelt, so können

die in Alkohol befindlichen Präparate, wie dies in den folgenden Kapiteln geschildert wird, durchtränkt und geschnitten werden. Bleiben aber solche Präparate längere Zeit im Alkohol liegen, so gehen sie noch weitere bemerkbare Veränderungen ein, manche Objekte werden z. B. so hart, daß sie nur schwer zu schneiden sind. Es kann daher unter Umständen vorteilhaft sein, Material, welches man nicht sofort schneiden will und für welches man bei längerem Verweilen in Alkohol Schaden fürchtet, sofort mit Paraffin zu durchtränken oder in Paraffinum liquidum (Samassa) überzuführen und darin aufzubewahren. Man verfährt dabei nach den im folgenden Kapitel angegebenen Regeln.

2. Kapitel.

Durchtränkung.

69. Fixierte Objekte besitzen nicht immer die zum Schneiden nötige Konsistenz, manche sind zu zart, als daß man sie überhaupt mit der Hand anfassen könnte. Man emanzipiert sich von der Konsistenz des Objekts, indem man dasselbe mit einem Medium durchtränkt, welches nachher erstarrt. Dann schneidet sich das Ganze wie die Durchtränkungsmasse allein, vorausgesetzt, daß das Objekt nicht härter als die Durchtränkungsmasse ist. Die gebräuchlichsten Durchtränkungsmassen sind Paraffin und Zelloidin.

70. Für die Mehrzahl der bei histologischer und embryologischer Untersuchung verfolgten Zwecke ist Paraffin das geeignetste Durchtränkungsmittel; Paraffin ist unentbehrlich, wenn es sich darum handelt, Serien dünner Schnitte durch kleine Objekte, z. B. Embryonen und Eier, auf Objektträger nach den später zu erörternden Methoden sicher und in einfacher Weise aufzukleben, und durch verschiedene Färbungen und sonstige spezielle Behandlung vorzubereiten.

71. Das Durchtränken mit Zelloidin ist bei großen Stücken (2 cm Seite und darüber) vorzunehmen, aber auch bei kleineren, die aus Geweben verschiedener Konsistenz bestehen oder zu hart sind, um in Paraffin geschnitten zu werden: Epidermis, entkalkter Knochen, dicke Schichten glatter Muskulatur. Für Erforschung der zentralen nervösen Organe mit einigen Weigertschen Methoden, sowie für einige andere Zwecke ist Zelloidin unentbehrlich. Mit

Zelloidin durchtränkte Stücke lassen sich nur angefeuchtet und in der Regel nicht so dünn, wie die mit Paraffin durchtränkten, schneiden.

72. Die **Paraffindurchtränkung** hat so zu geschehen, daß alle kleinsten Bestandteile des Objekts von Paraffin durchdrungen sind.

Würde man nun einfach das Objekt aus dem Alkohol in geschmolzenes Paraffin übertragen und dann das Ganze erstarren lassen, so würde das Paraffin nicht eindringen, da es sich mit Alkohol nicht mischt, das Stück würde nur eingeschmolzen, aber nicht durchschmolzen oder durchtränkt. Man hat daher, ehe man das Objekt ins Paraffin bringt, dasselbe in eine Flüssigkeit zu bringen, welche sich einerseits mit Alkohol, anderseits mit Paraffin mischt.

73. Solcher gibt es eine ganze Reihe, z. B. Toluol, Xylol, Chloroform, dann verschiedene Öle, Terpentinöl, Bergamottöl (ist teuer), Zedernholzöl. Giesbrecht hat Chloroform als wertvolle Zwischenflüssigkeit zuerst empfohlen.

Soweit diese Flüssigkeiten, vor allem Toluol, Xylol, Chloroform eines für das andere angewandt werden können, sprechen wir der Einfachheit halber, in der Regel nur von **Xylol**. Für zarte Objekte ist Chloroform vorzuziehen.

74. Es ist zu beachten, daß sich Xylol mit Wasser fast gar nicht mischt, es darf daher das Objekt nicht aus dem 90%igen Alkohol in Xylol gebracht werden, sondern es muß erst wasserfrei gemacht werden durch **absoluten Alkohol.**

Der im Handel käufliche absolute Alkohol ist meist nur 98—99%ig. Wasserfrei kann derselbe gemacht werden durch Einlegen von pulverisiertem, geröstetem Kupfervitriol in denselben.

Letzterer ist im Handel käuflich und wird in kleine Leinwandsäckchen mit Faden eingebunden oder eingenäht; derartige Kupfervitriolsäckchen legt man in die Gefäße, in welchen absoluter Alkohol aufbewahrt wird. Diese Gefäße müssen stets gut verschlossen sein, da der absolute Alkohol auch Wasser aus der Luft aufnimmt.

75. Beim Übertragen des Objektes aus einer Flüssigkeit in eine andere entstehen Diffusionsströme, die namentlich bei zarteren, größere Hohlräume enthaltenden Objekten zu Zerreißungen und Schrumpfungen Veranlassung geben, welche das Objekt oft bis zur Unkenntlichkeit entstellen. Deshalb kann man bei dieser Prozedur nicht vorsichtig genug sein: man läßt das Objekt aus dem Alkohol langsam in die Zwischenflüssigkeit hineinsinken. Dieses ge-

schieht, indem man in ein Probierröhrchen zuerst die spezifisch schwerere Zwischenflüssigkeit, z. B. Chloroform, und auf diese langsam absoluten Alkohol aufgießt. Man bringt dann die Stücke vorsichtig in das aufrecht stehende Gläschen und sieht, daß sie an der Stelle, an welcher sich die beiden Flüssigkeiten berühren, stehen bleiben; erst wenn sie von der Zwischenflüssigkeit durchtränkt sind, senken sie sich zu Boden; dann kann man den sich zu oberst befindlichen Alkohol entweder vorsichtig abgießen, oder mit einer Glaspipette wegsaugen.

Es ist selbstverständlich, daß die Objekte sich in die Zwischenflüssigkeit um so langsamer senken, je schwerer diese im Vergleich zum Alkohol ist; will man ein langsames Versenken erzielen, so gebrauche man Chloroform.

Will man zarte Objekte schonend aus absoluten Alkohol in Xylol überführen, so setze man nur allmählich Xylol zu Alkohol und gehe erst dann zu reinem Xylol über.

76. Man bringt die Objekte aus dem Xylol nicht direkt in reines Paraffin, sondern zunächst in eine **Mischung** von mehr Xylol und weniger Paraffin. Stellt man die Mischung in einen Thermostat von 50° C, so verdunstet allmählich das Xylol im Verlauf einiger Stunden, so daß fast reines Paraffin bleibt. Ganz rein wird dasselbe jedoch nicht; es muß daher das Objekt zum Schluß noch in **reines Paraffin** auf einige Stunden übertragen werden.

77. Paraffinsorten. Je nach der Temperatur, bei welcher man schneiden will, benutzt man Paraffin von verschiedenen Schmelzpunkten, bei niederer Temperatur zu 50° C, bei höherer zu 60° C.

Man tut gut, mit verschiedenen Paraffinsorten von verschiedenen Schmelzpunkten zu arbeiten und diese zu mischen. Man nimmt als weichste Sorte ein Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt, als härteste ein solches von 55—60° Schmelzpunkt. Je nachdem man von dem einen mehr oder weniger als von dem anderen nimmt, erhält man durch Probieren ein Paraffin, das bei der gewünschten Temperatur flüssig wird.

78. Graf Spee (85) empfiehlt überwärmtes Paraffin, namentlich für Bänderschneiden (siehe § 128), zu verwenden. Darstellung: Paraffin von 50° C Schmelzpunkt wird in einer offenen Porzellanschale über einer Flamme geschmolzen und dann weiter erhitzt, bis es unter Entwickelung unangenehm riechender weisser Dämpfe, geringer Reduktion seines Volumens und Erhöhung seines Schmelzpunktes, um einige Grade eine braungelbe, dem gelben Wachs oder Honig ähnliche Farbe angenommen hat. (Dieses Paraffin erhält man auch durch Dr. Grübler in Leipzig.)

79. Die Zeitdauer, welche das zu durchtränkende Stück in den einzelnen Medien zu bleiben hat, richtet sich nach der Größe des Stückes. Am längsten muß es in absolutem Alkohol bleiben, um das Stück ganz wasserfrei zu machen, und in der Mischung Xylol-Paraffin, um ein möglichst vollständiges Verdunsten des Xylols herbeizuführen.

Die Zeit, welche sich für Stücke verschiedener Größe als Optimum empfiehlt, ist in Stunden:

	Kleine Objekte unter 1 mm Seite	Mittlere Objekte bis 5 mm Seite	Große Objekte über 5 mm Seite	Sehr große Objekte
Absol. Alkohol	2	6	24	längere Zeit, aber auf Kosten der Güte.
Xylol	1/2	2—3	3—4	
von jetzt an weiter im Thermostat				
Xylol-Paraffin .	1	4	6	
Paraffin . . .	1/2	2	3—4	

Der Aufenthalt im Thermostaten bei 50° für Xylol-Paraffin und 60° C für reines Paraffin schadet nicht, vorausgesetzt, daß die Entwässerung eine gute war, und daß die Objekte nicht allzulange darin verbleiben.

80. Es ist nicht Bedingung, daß der Prozeß des Durchtränkens zeitlich ununterbrochen verlaufe, man kann z. B. in reines Paraffin oder Paraffin-Xylol gelegte Stücke abends aus dem Thermostaten herausnehmen, um sie morgens wieder hineinzustellen. Dies verdient jedenfalls den Vorzug gegenüber dem Verfahren, daß die Stücke über Nacht im Thermostat verbleiben und so vielleicht Schaden nehmen könnten.

81. Will man den Vorgang sehr allmählich und gleichmäßig machen, so kann man, anstatt das Objekt aus Xylol in die Mischung überzuführen, dem Xylol Stücke ungeschmolzenen Paraffins zusetzen. Dieses wird schmelzend sich allmählich dem Xylol beimischen, während das Xylol verdunstet.

82. Als Thermostat dienen doppelwandige Kästen, welche vorn eine Glastüre besitzen. Der Raum zwischen den doppelten Wänden wird mit Wasser oder Glyzerin gefüllt. Heizung am besten mit Gas. Zahlreiche Firmen liefern solche Wärmekästen. Ein Regulator vermindert oder vermehrt den Gaszufluß, wenn die Temperatur, deren Höhe ein ins Innere des Kastens reichender Thermometer anzeigt, von der gewünschten abweicht.

Ein hübscher Apparat, der unter dem Namen »Neapler Wasserbad« zu beziehen ist, ist vielleicht deshalb nicht für alle Zwecke ausreichend, da er zu klein ist.

83. Der Thermo-Regulator besteht in einfachster Form aus 2 Glasröhren, welche ineinander geschoben sind, ohne

sich zu berühren. Durch die innere, engere Röhre strömt Gas in die weitere, umfassende. Letztere ist oben und unten geschlossen; durch eine seitliche Öffnung strömt das Gas wieder aus zum Brenner.

Die engere Röhre reicht nicht ganz bis zum Boden der weiteren Röhre. Ein Teil der weiteren Röhre ist mit einer Flüssigkeit, z. B. Quecksilber, gefüllt. In dieses taucht man, wenn die gewünschte Temperatur des Ofens erreicht ist, die Spitze der engeren Röhre, welche schief abgeschnitten ist, ein. Steigt die Temperatur, so wird auch die Quecksilbersäule steigen und das Loch allmählich verschließen, so daß weniger Gas durchströmt. Um bei raschem Steigen und vollständigem Verschluß der Röhre ein Erlöschen der Flamme zu verhüten, befindet sich oben in der engen Röhre eine kleine Öffnung, welche stets ein sehr geringes Ausströmen des Gases gestattet.

84. Ist so das Objekt mit reinem Paraffin durchtränkt, so wird es in eine Form gegossen, „**eingebettet**".

Die Form muß mit Glyzerin in dünner Schicht ausgestrichen sein, damit sich der erstarrte Paraffinblock wieder leicht herausnehmen läßt.

Als Form dienen für mittelgroße Objekte zwei auf eine Glasplatte aufgestellte Winkel. Dies sind unter rechtem Winkel gebogene Metallplatten von Messing oder Schriftmetall, welche, je nachdem sie zusammengestellt werden, eine größere oder kleinere Form geben.

Vielfach werden als Form Papierkästchen oder Stanniolkästchen benutzt, wie sie sich jeder leicht selbst anfertigt.

Für sehr kleine Objekte bedient man sich mit Vorteil eines Uhrschälchens als Form; auch können glattrandige Deckel der käuflichen Glasdosen in verschiedenen Größen benutzt werden.

85. Das Verfahren ist folgendes. Nachdem die Form mit der den Boden bildenden Glasplatte gut mit Glyzerin ausgestrichen und angewärmt ist, wird ein Spatel (eine Platte mit Stiel, erstere gewöhnlich aus vernickeltem Blech, die besten fertigt man aus Platin) und eine Präpariernadel über der Flamme leicht erwärmt, Paraffin in die Form gegossen und das Objekt mit dem erwärmten Spatel übertragen. Das Objekt wird dann orientiert, d. h. mit der erwärmten Nadel in die Lage gebracht, in der es nachher geschnitten werden soll. Die Orientierung ist für manche Objekte sehr notwendig, da später, wenn das Paraffin erstarrt und undurchsichtig geworden ist, eine solche erschwert, bisweilen unmöglich ist. Ist das Objekt orientiert, so wartet man, bis das Paraffin ein Häutchen bekommt, was man durch Anblasen desselben befördern

kann. Dann wird die ganze Form in kaltes Wasser gebracht, um ein möglichst rasches Erstarren von allen Seiten herbeizuführen. Letzteres ist notwendig, da das langsam erstarrte Paraffin nicht so homogen wird und sich nicht so gut schneidet, wie das rasch erstarrte. Nach etwa 30 Minuten langem Liegen in kaltem Wasser sind mittelgroße Stücke erstarrt und können aus der Form genommen werden.

Um die in durchsichtigem flüssigem Paraffin orientierten Objekte auch nach der Erstarrung des Paraffins auf dem Paraffinblocke zu markieren, bringt man sie in Lage beziehung zu geraden Rinnen, welche man sowohl auf der Glasplatte, als auch auf der Innenseite der Einbettungsrahmen, die beim Ausgießen des Paraffins benutzt werden, mit Demant anbringt. Diese Rinnen hinterlassen deutliche Spuren auf dem erstarrten Paraffinblock.

86. Die Durchtränkung mit Kollodium ist von **Duval** in die mikroskopische Technik eingeführt worden. **Schiefferdecker** (82) hat als Ersatz dafür auf Empfehlung Merkels **Zelloidin** eingeführt.

87. Die **Zelloidindurchtränkung** wird folgendermaßen ausgeführt: Das in Tafeln käufliche Zelloidin ist wasserhaltig und liefert deshalb nur schlecht schneidbare Massen; man schneide dieses Zelloidin in kleine Stücke und trockne es an der Luft oder im Thermostaten, wobei es hart, gelblich und durchsichtig wird. — Man stelle aus diesen getrockneten Zelloidinstückchen 3 Lösungen dar: 1. eine gesättigte in abs. Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen (Urlösung), 2. eine Lösung aus gleichen Teilen der Lösung 1 und Alkohol-Äther und 3. eine Lösung, die aus einem Teil der Lösung 2 und einem gleichen Volumen Alkohol-Äther besteht. Man achte darauf, daß sowohl Alkohol als Schwefeläther absolut wasserfrei sind. — Die zu durchtränkenden Objekte kommen aus dem abs. Alkohol in Alkohol-Schwefeläther zu gleichen Teilen, worin sie etwa 24 Stunden verbleiben, dann kommen sie auf 24 Stunden oder länger in die Lösung 3, aus dieser auf ebenso lange Zeit in die Lösung 2 und schließlich auf 48 Stunden in die Urlösung 1. In dieser Lösung werden die Stücke eingebettet und zwar so, daß man das Zelloidin samt dem Stücke in ein trockenes, passendes Gefäß mit flachem, ebenem Boden (z. B. Glasdosendeckel) gießt, luftdicht schließt (mit Vaseline eingeriebene Glasplatte), damit die Luftblasen entweichen, nach einigen Stunden wird der Deckel entfernt und das

Glasgefäß samt dem Präparat unter eine kleine Glasglocke gebracht. Nun bildet sich auf dem Zelloidin eine Kruste; nach 6—12 Stunden kann das Ganze vorsichtig in 70%igen Spiritus gebracht werden; nach 24 Stunden kann das Zelloidin vom Glase abgelöst und entweder weiter zum Schneiden behandelt oder beliebig lange in 70—80%igen Spiritus aufbewahrt werden, noch besser aber in Glyzerin, worin die zugeschnittenen Zelloidinstücke ganz durchsichtig werden. — (Die Zelloidindurchtränkung haben wir nach Apáthy (89) dargestellt.)

88. Will man die so eingebetteten Stücke in Schnitte zerlegen, so schneide man zuerst das Zelloidin mit den Objekten so zu, daß die zu schneidende Fläche etwa ein Quadrat darstellt, und befestige den Zelloidinblock auf einem Kork- oder Holzklotz. — Kork- resp. Holzklotz werden in abs. Alkohol, oder besser, in Alkohol-Äther gelegt, und ebenso die zu befestigende Fläche des Zelloidinblockes ein paar Minuten in abs. Alkohol eingetaucht, um die oberflächliche Zelloidinschicht aufzuweichen; nun wird der Block mit einer eben zugeschnittenen Fläche auf den Träger mit dünnem Zelloidin 2 (siehe § 87) aufgelegt, vorsichtig angedrückt, damit die Zelloidinschicht dünn wird, das hervorquellende Zelloidin entfernt und nach einigen Minuten das Ganze in 70%igen Spiritus getaucht; nach ein paar Stunden kann geschnitten werden.

89. Eine zweite grobe Art in Zelloidin einzubetten (nur für Übersichtsbilder und Schnelldiagnosen zu gebrauchen), besteht darin, daß das betreffende Stück aus dem Zelloidin genommen und direkt auf einen Kork- oder Holzklotz gelegt wird. Ist das Zelloidin nach einer Stunde in der Luft etwas härter geworden, so überträgt man Klotz mit Präparat in 80%igen Alkohol, in welchem die Befestigung nach einigen Stunden erfolgt. In Zelloidin eingebettete Präparate müssen feucht unter Spiritus geschnitten werden.

90. An Stelle von Zelloidin kann man sich auch für manche Zwecke Photoxylins, Krysinski (87), bedienen, welches sich vielleicht etwas weniger gut schneidet, aber durchsichtiger bleiben soll und so die Orientierung beim Schneiden erleichtert.

91. Für die Beurteilung der später einzuschlagenden Operationen (siehe § 136) behalte man im Auge, daß Zelloidin in starkem Alkohol und namentlich in absolutem leicht löslich ist. Sehr viele ätherische Öle, in erster Linie das vielgebrauchte Nelkenöl, lösen Zelloidin, dagegen nicht Bergamottöl, Origanumöl, Zedernholzöl. Neelsen und Schiefferdecker (82).

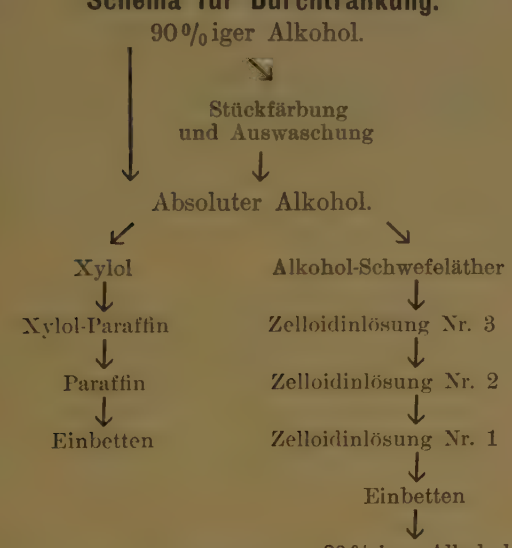
92. Um die Vorteile, welche Zelloidin- und Paraffindurchtränkung bieten, zu vereinigen und womöglich die Fehler beider

zu vermeiden, hat man versucht, ein Objekt zunächst mit Zelloidin und das so gewonnene Stück nachträglich noch mit Paraffin zu durchtränken. Zelloidin-Paraffindurchtränkung. Zu empfehlen für sehr zarte Objekte, für welche bei Paraffindurchtränkung allein in Xylol und Thermostat ein Schrumpfen befürchtet wird.

93. Die einfachste und die beste Methode für Zelloidinparaffin-Durchtränkung ist die von Apáthy (96): statt die mit Zelloidin durchtränkten Stücke zum Härten in 70%igen Spiritus zu bringen, härtet man in Chloroform und durchtränkt mit Chloroform-Paraffin, Paraffin etc.

94. Bei sehr brüchigen Objekten behilft man sich, indem man die Schnittflächen mit einer dünnen Zelloidinlösung (1%ig) oder heißem Paraffin überstreicht, diese erstarren läßt und dann einen Schnitt anfertigt. Dieses Verfahren ist sowohl bei der kombinierten Zelloidin-Paraffin-Methode, als auch bei Paraffin allein anwendbar. Zu der Zelloidinlösung ist es zweckmäßig, Rizinus- oder Zedernholzöl zuzusetzen, 5 Tropfen auf 10 ccm Jordan.

95. Schema für Durchtränkung.



Weitere Literatur zu Kapitel 2: Blechmann (84), Neumayer (03) und Helbing (03) in der Encyklopädie der mikrosk. Technik.

3. Kapitel.

Mikrotom.

96. Um das Schneiden von der geringeren oder größeren Geschicklichkeit des einzelnen unabhängig zu machen, wurde eine Reihe von Apparaten konstruiert, welche den Namen **Mikrotom** führen. Diese Apparate, sehr verschieden gebaut, haben das gemeinschaftlich, daß das Präparat bei gleichstehendem Messer nach jedem Schnitt um so viel gehoben wird, als die Dicke des nächsten Schnittes betragen soll. Dies wird erreicht, z. B. bei dem Jungschen Mikrotom, durch eine schiefe Ebene, auf welcher das Präparat bewegt wird, während das Messer in derselben Ebene bleibt, bei andern z. B. dadurch, daß das Präparat direkt durch eine Mikrometerschraube, auf der es befestigt ist, gehoben wird. Bedingung für das Schneiden ist nun, daß stets nur so viel durch das Messer weggenommen wird, als das Objekt eben gehoben wurde. Dies geschieht bei manchen Mikrotomen dadurch, daß das durch die Hand geführte Rasiermesser einer festen Unterlage aufliegt, welche verhindert, mehr wegzunehmen, als was eben über diese Unterlage hervorragt. Bei anderen Mikrotomen ist das Messer an einem Blocke befestigt, welch letzterer auf Schienen bewegt werden kann. Das Messer beschreibt so bei jeder Bewegung wieder denselben Weg und nimmt jedesmal das, um was das Objekt gehoben wurde, weg. Die letzteren sind die sogenannten **Schlittenmikrotome.**

Wieder bei anderen Mikrotomen steht das Messer fest, und das Objekt wird durch einen Hebel an demselben vorbeibewegt.

Beschreibung einiger Mikrotome.

97. Das Ranviersche Mikrotom besteht aus einer Platte, über welche ein Rasiermesser mit der Hand weggeführt wird. In der durchbohrten Mitte trägt dieselbe ein Loch, welches in einen Hohlzylinder führt, darin steckt das Objekt. Was über die Platte hervorragt, wird abgeschnitten. Die Vorwärtsbewegung des Objektes geschieht durch eine Mikrometerschraube, welche, mit einer Platte versehen, in dem Zylinder steckt und das Objekt schiebt. Dieses Mikrotom genügt nur für die einfachsten Zwecke.

Ein vorzügliches Schlittenmikrotom baut Jung in Heidelberg. Dieses liegt der nun folgenden Beschreibung zugrunde.

98. Bestandteile des Jungschen von Prof. Thoma verbesserten Rivet-Brandtschen **Mikrotoms.**

Das Stativ desselben ist aus vier Metallplatten zusammengesetzt. Die erste liegt als Fuß auf dem Tisch; senkrecht zu derselben ist auf derselben eine zweite befestigt. An den beiden Seiten der senkrechten verläuft je eine Platte unter einem nach oben offenen spitzen Winkel. In diesen beiden Winkeln kann jederseits ein schwerer metallener Keil eingesetzt werden. Diese füllen den Winkel genau aus und können auf an den Platten befindlichen Schienen verschoben werden. Die Keile laufen, um die Reibung zu vermindern, auf Metallknöpfen oder Elfenbeinfüßchen. Diese Keile werden Schlitten genannt. Rechts befindet sich der das Messer tragende Schlitten, der **Messerschlitten,** links der das Objekt tragende **Objektschlitten.**

99. Das Messer wird am **Messerschlitten** in zum Tisch wagrechter Richtung durch eine Schraube befestigt.

Die Messerschlitten tragen meist mehrere Bohrungen zur beliebigen Befestigung des Messers.

100. Zu empfehlen sind Messerhalter, welche in die Schraube eingespannt werden können. Das Messer kann im Messerhalter in verschiedenen Stellungen durch Klemmschrauben befestigt, und dadurch die ganze Länge der Schneide ausgenutzt werden. Es ist dann möglich, wenn eine Stelle des Messers nicht mehr gut schneidet, dasselbe zu verschieben.

101. Die älteren Messer, welche ohne Messerhalter befestigt werden sollen, besitzen an ihrem Ende einen Griff, in welchen die Halteschraube paßt.

102. Der **Objektschlitten** trägt den Objekthalter. Der Objekthalter ist eine Klammer, welche an einem Stift durch die Halteschraube höher oder tiefer gestellt werden kann. In dieser Klammer wird das Objekt, resp. der Kork oder Holzklotz, auf welchem dasselbe befestigt ist, durch eine Schraube »eingespannt«.

103. An Stelle der eine Klammer tragenden Objektschlitten wurden solche konstruiert, welche eine Drehung des Objekts nach allen Seiten und Feststellung desselben in einer beliebigen Lage gestatten: Orientierungsapparate. Ein solcher ist für feinere, speziell embryologische Untersuchungen unentbehrlich.

Der Orientierungsapparat des Jungschen Mikrotoms besteht aus zwei ineinander befindlichen Rahmen, welche um zwei aufeinander senkrecht stehende Achsen durch Schrauben

bewegt, durch Triebbewegung (nach L. Koch) vertikal verstellt und in jeder beliebigen Stellung festgestellt werden können.

Im inneren Rahmen kann ein Zylinder festgestellt werden, auf welchen das Objekt aufgeschmolzen wird. Der Zylinder, mit ihm das Objekt, kann gehoben oder gesenkt werden, auch ist er um seine Längsachse drehbar.

104. Wird nun der Messerschlitten bei ruhigstehendem Objektschlitten durch die Bahn geführt, so wird er ein über Messerhöhe hervorragendes Stück des Objekts abschneiden. Nun wird der Messerschlitten zurückgeschoben. Die Bahn des Messerschlittens ist überall in gleicher Höhe vom Tisch entfernt. Die Bahn des Objektschlittens steigt dagegen allmählich an: wird daher der Objektschlitten etwas vorwärts geschoben, so steht das Objekt etwas höher, es wird demnach, wenn der Messerschlitten wieder durch die Bahn bewegt wird, ein Schnitt abgeschnitten usf.

Eine einfache Überlegung zeigt sofort, daß der vielleicht auftauchende Gedanke, es könnte sich hier nicht um plattenförmige Schnitte, sondern um keilförmige handeln, unrichtig ist.

105. Die Bewegung des Objektschlittens erfolgt durch eine Mikrometerschraube, welche ein eigener Schlitten, der Mikrometerschraubenschlitten, führt. Dieser Schlitten befindet sich in der Objektschlittenbahn und wird dem Objektschlitten näher geschoben, bis die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt. Die Spitze der Mikrometerschraube ruht dann auf einer eigenen Platte des Objektschlittens. Dann wird der die Mikrometerschraube tragende Schlitten mittels einer Halteschraube befestigt.

Wird nun die Mikrometerschraube um ein Bestimmtes gedreht — wie weit, kann an einer an derselben befindlichen Trommel abgelesen werden —, so wird der Objektschlitten um ein Bestimmtes vorgeschoben, das Objekt um ein Bestimmtes gehoben, und aus der Größe der Drehung der Mikrometerschraube ergibt sich nach ihrem, für jedes Mikrotom bestimmten Umdrehungswert die Schnittdicke. Diese beträgt für das Jungsche Mikrotom für eine Umdrehung der Mikrometerschraube 15 μ.

106. Diese Mikrometerschraube hat, wie aus dem Angeführten hervorgeht, eine andere Bedeutung als die Mikrometerschraube, wie sie bei anderen Mikrotomen (z. B. § 112) angewandt wird, indem letztere das Objekt direkt hebt.

107. Eine Skala mit Nonius, an der abgelesen werden kann, wie weit der Objektschlitten vorgeschoben wurde, und nach

der unter Berücksichtigung der Steigung der Bahn die Schnittdicke berechnet werden kann, bleibt an den neueren Jungschen Mikrotomen weg.

108. Für die Mikrotome wurden besondere Messer von Keilform konstruiert. Die über das Präparat weggleitende Seite des Messers ist eben geschliffen, die obere hohl.

109. Beim Abziehen, wozu besonders konstruierte Riemen geliefert werden, lege man die Hohlseite des Messers ganz auf, dasselbe berührt dann mit Schneide und Rückenkante den Riemen.

Die Messer sind nicht wie die Mikrotome durch Ölen (siehe § 115) vor dem Rosten zu schützen, vielmehr bediene man sich dazu des Paraffins. Mit einem Stück reinen Paraffins reibt man die ganze Fläche des Messers ein.

Um das Rosten zu verhüten, halte man die Messer in Etuis und bewahre sie wie die Mikrotome vor Berührung mit Säuren und Feuchtigkeit.

Nebenapparate des Jungschen Mikrotoms:

110. Gefrierapparat. Derselbe wird am Jungschen Mikrotom am Objektschlitten befestigt, in ähnlicher Weise wie der Objekthalter und an Stelle desselben. Er besteht aus einer Platte von Metall, auf welche das Objekt, nicht über 5 mm dick, gelegt wird; gegen ihre Unterseite wird durch ein Gebläse Äther zerstäubt. Hierdurch wird die Platte stark abgekühlt, und das Objekt friert an. Ist dasselbe fest gefroren, so wird in der gewöhnlichen Weise, aber trocken, ohne das Messer irgendwie zu benetzen, geschnitten.

Nach Benutzung des Gefrierapparates ist eine besonders genaue Reinigung und Ölung des Mikrotoms erforderlich, um Rosten desselben zu verhüten.

Es werden auch verschiedene spezielle Gefriermikrotome angefertigt, sowohl für Äther als auch für flüssige Kohlensäure. Näheres darüber Solger »Gefriermethoden« und Thomé »Mikrotome« in der Encyklopädie der mikroskopischen Technik.

111. Um den Druck der Hand bei Führung des Messerschlittens auszuschalten, wird an Jungschen Mikrotomen ein tischwärts ragender Zapfen angebracht.

112. Das **Schanzesche** (Rivet-Weigertsche) Mikrotom besteht aus einem Messerschlitten, ähnlich dem beim Jungschen beschriebenen. Die Hebung des Objektes geschieht in ähnlicher Weise, wie beim Ranvierschen, durch eine Mikrometerschraube mit geteilter Scheibe zum Ablesen.

Dieses Mikrotom wird jetzt noch mit einer Reihe von Neuerungen angefertigt, z. B. einem Orientierungsapparat, einer Tauchwanne für Naßschneiden.

Auch werden bei derartigen Instrumenten die Schienen aus Glas hergestellt, sie können bei Beschädigung weggenommen und durch andere ersetzt werden. Vorzügliche derartige Instrumente liefert z. B. Becker in Göttingen.

113. Weitere, z. B. die kleinen **automatischen Mikrotome** und das große Reinhold-Giltaysche Mikrotom sind Systeme, welche sich bei uns noch nicht so eingebürgert haben, wie die Schlittenmikrotome. Über automatische Mikrotome vgl. Minot (97).

114. Für spezielle Zwecke, z. B. Schnitte durch das ganze Gehirn, sind eigene Mikrotome konstruiert worden.

Schneiden mit dem Jungschen Mikrotom.

115. Ölen. Die Schienen der Schlittenbahnen des Mikrotoms werden vor dem Gebrauch gesäubert und mittels eines Pinsels mit einer Ölschicht überzogen. Es empfiehlt sich hierfür:

4 Teile Knochenöl auf
1 Teil Petroleum.

Die Prozedur der Säuberung und des Ölens erfordert eine besondere Sorgfalt, da sie die Vorbedingung des ruhigen Ganges des Schlittens ist. Geht der Schlitten schwer, was bald der Fall ist, besonders wenn man das Mikrotom nicht vor Staub schützt, indem man es z. B. nicht mit einem Glassturz bedeckt, so darf nicht sofort neues Öl aufgetragen werden, sondern es müssen sorgfältig die Schienen der Schlittenbahnen mit einem Tuche gereinigt werden, dann erst ist frisches Öl aufzutragen.

Die Ölschicht muß eine dicke sein, so daß der Messerschlitten, dessen Bahn beim Ölen besonders zu berücksichtigen ist, leicht mit dem Finger angestoßen, von selbst durch die Bahn läuft.

Laufen die Schlitten auf Glasschienen, so wird nicht geölt.

116. Einspannen des Objekts. Das in Paraffin eingebettete Objekt wird mit einem Messer als Würfel ausgeschnitten, dann schneidet man von 5 Seiten des Stücks möglichst viel überflüssiges Paraffin weg. Mit der sechsten Seite wird das Stück auf ein in die Klammer des Objektschlittens passendes Stück harten Paraffins, Kork, Holz oder Stabilit aufgeschmolzen. Letzteres geschieht in der Weise, daß man

mittels eines an der Flamme erhitzten Drahtes das Paraffin schmilzt und dann das Stück rasch auflegt. Etwaige Unregelmäßigkeiten werden noch mit dem heißen Draht geebnet und das Stück für zehn Minuten in kaltes Wasser gebracht.

117. Fixierte Stücke können auch undurchtränkt, jedoch feucht geschnitten werden, vorausgesetzt, daß sie hierfür hart genug sind. Dieselben werden auf einem Kork oder Holzstück mittels Gummileim befestigt (Weigert). Stück und Block werden einige Zeit mit der Hand zusammengehalten und kommen dann, um den Gummi zum Erstarren zu bringen, in Alkohol.

Nun wird das Ganze in den Objekthalter fest eingeschraubt, eingespannt.

118. Am Messerschlitten wird das Messer so befestigt, daß seine Längsachse einen nach der Konsistenz des Objekts und Härte des Paraffins, resp. Temperatur, zu wählenden Winkel zu der Längsachse des Mikrotoms bildet.

119. Alle Schrauben müssen fest angezogen werden, so daß Objekt und Messer unbeweglich mit ihren Schlitten verbunden sind.

120. Jetzt wird das Objekt so weit gehoben, daß die nach oben gerichtete Seite desselben möglichst genau die Höhe des Messers hat. Das Messer wird versuchsweise über das Objekt weggeführt, eventuell der Objektschlitten noch wenig verschoben, bis das Messer faßt.

121. Grundregel ist: Niemals dürfen dicke Scheiben mit dem Mikrotommesser abgeschnitten werden. Will man z. B. einen Teil des durchtränkten Stückes entfernen, um aus der Mitte des Stückes Schnitte zu bekommen, so geschieht dies entweder mit einem gewöhnlichen scharfen Messer, oder man schneidet mitteldicke Scheiben allmählich mit dem Mikrotommesser ab, indem man den Objektschlitten jedesmal höchstens um Bruchteile eines Millimeters verschiebt und abschneidet, so lange, bis man das Gewünschte entfernt hat.

Ist so in richtiger Schnitthöhe eingestellt, so wird mit einem Messer von den Rändern des Paraffinblocks Paraffin abgeschnitten, so daß die Schnittfläche des Objekts eine möglichst kleine ist. Es empfiehlt sich hierbei, wenn man mit schief gestelltem Messer schneidet, den Block so zuzuschneiden, daß die Schnittfläche gegen das Messer eine Spitze bildet; es greift dann das Messer leichter an, doch ist dies unwesentlich. Dann wird der Schlitten mit der

Mikrometerschraube an den Objektschlitten so angenähert, daß die Spitze der Mikrometerschraube den Objektschlitten berührt, und der Schlitten wird mit der Halteschraube befestigt. Das Schneiden kann beginnen.

122. Beim **Schneiden** führt die rechte Hand den Messerschlitten, indem sie denselben mit zwei Fingern an der dem Schneidenden zugekehrten und der entgegengesetzten Seite anfaßt. Niemals darf von oben aufgedrückt werden, da sonst die zwischen Schlitten und Schlittenbahn befindliche Ölschicht verdrängt wird und Schneiden und Schnitt unregelmäßig werden. Die linke Hand führt einen Pinsel, um den Schnitt während des Schneidens zu verhindern, sich aufzurollen.

123. Es sind auch Schnittstrecker (Born, 93) konstruiert worden; dieselben sind jedoch entbehrlich.

124. Zunächst wird die Mikrometerschraube gedreht, und zwar für den Anfang in der Regel zur Erzielung einer Schnittdicke von 15 μ, bei Jung eine Umdrehung, später 10 μ und weniger, d. h. es wird die Schraube nur zu zwei Drittel und weniger gedreht, was an der Trommel abgelesen werden kann.

Dann wird der Messerschlitten langsam durch die Bahn geführt, indem, sowie das Messer faßt, mit dem Pinsel der Schnitt gehalten wird, ehe er sich zu rollen beginnt.

Die Pinselführung macht im Anfang viel Schwierigkeit. Einmal sollen die Pinselhaare nicht mitgeschnitten werden, dann muß der Schnitt während des Schneidens frei in der Luft gehalten werden, ohne daß er mit dem Pinsel aufs Messer aufgedrückt wird. Doch ist die erforderliche Übung bald erreicht.

125. Ist so der Schnitt gelungen, so wird derselbe mit einem oder zwei Pinseln oder auch vermittelst einer Nadel oder eines spitz ausgezogenen Glasstäbchens weggenommen, um weiter behandelt zu werden. Dann wird der Messerschlitten zurückgeführt, und zwar durch die ganze Bahn. Der Messerschlitten muß stets deshalb durch die ganze Bahn geführt werden, damit eine gleichmäßige Abnützung derselben erzielt wird.

126. Hat man eine Zeitlang geschnitten, so wird die Mikrometerschraube ihre ganze Bahn durchlaufen haben, sie muß dann zurückgedreht werden. Dabei ist zu beobachten, daß die zurückgedrehte Mikrometerschraube den Messerschlitten nicht mehr berührt. Es muß demnach die

Halteschraube des Mikrometerschraubenschlittens gelöst, derselbe in der früher angegebenen Weise vorsichtig an den Objektschlitten angeschoben und dann wieder festgeschraubt werden. Der Objektschlitten darf während der ganzen Operation nicht bewegt werden. Ist dies aus Unvorsichtigkeit doch geschehen, so muß das Objekt vorsichtig wieder in Schnitthöhe gebracht werden, wie es angegeben wurde.

127. Oben ist angegeben, daß die Messerstellung eine schiefe sein soll; dies ist besonders nötig, wenn ein Objekt schwer zu schneiden ist. Es hat dies den Zweck, daß die Wirkung des Messers mehr auf Zug als auf Druck beruhe, was das Schneiden erleichtert.

128. Bisweilen empfiehlt es sich auch, das Messer quer zur Längsachse der Bahnen zu stellen. Dadurch wird das sogenannte Bänderschneiden ermöglicht, was für eine bestimmte Paraffinsorte stets bei einer gewissen Temperatur möglich ist. Hierbei wird der Schnitt nicht vom Messer weggenommen, er bleibt an der Schneide kleben, und beim Schneiden wird er Rand an Rand mit dem nun folgenden Schnitt innig verbunden. So kann man eine ganze Reihe von Schnitten aneinander kleben lassen. Bänderschneiden ist, wie gesagt, nur möglich bei nicht zu dicken Schnitten, bei einer bestimmten Paraffinsorte und bei geeigneter Temperatur. Das Bänderschneiden gestattet ein rasches Arbeiten. Nötig ist es, die Oberfläche des das Objekt einschließenden Paraffinblocks (am besten rechteckig) so zuzuschneiden, daß die der Messerschneide und die dem Schneidenden zugekehrte Seite beide der Messerschneide parallel sind.

129. Um bei hoher Zimmertemperatur das Schneiden von Paraffin auch von verhältnismäßig niedrigem Schmelzpunkt zu ermöglichen, kann man sogenannte Kühlmesser benützen (Stoß, 91). Solche Messer (welche Katsch in München liefert) sind nahe dem Rücken der Länge nach durchbohrt; durch die so gebildete Röhre im Messer wird ein Eiswasserstrom durchgeleitet. Wenn das Paraffin infolge zu hoher Zimmertemperatur zu weich wird, kann man sich auch dadurch helfen, daß man das eingespannte Paraffinstück mit einem mit Äther getränkten Stückchen Watte umwickelt.

130. Mit Zelloidin durchtränkte Schnitte werden feucht geschnitten, d. h., es müssen vor jedem Schnitt das Stück und das Messer mittels eines Pinsels mit 70 bis 80% igem Spiritus befeuchtet werden. Man schneidet mit schräg gestelltem Messer und mit raschen Zügen.

Nach dem Feuchtschneiden bedarf das Mikrotom einer besonderen Reinigung, um das Rosten zu verhüten.

131. Mit dem Gefriermikrotom wird trocken geschnitten, die Schnitte werden mit einem Pinsel vom Messer abgehoben und in physiologische Kochsalzlösung, Formol oder schwachen Alkohol überführt.

4. Kapitel.

Weiterbehandlung des Schnittes.

132. Die Weiterbehandlung des Schnittes richtet sich nach dem Medium, mit welchem derselbe durchtränkt war. Paraffinschnitte müssen zunächst von dem darin befindlichen **Paraffin befreit** werden. An aufgehellten Schnitten von Objekten, welche auf keine Weise gefärbt sind, sieht man nur wenig. Ungefärbte Schnitte müssen daher gefärbt werden, Schnittfärbung, wenn nicht Stückfärbung vorausgegangen ist. Dann können dieselben zur Aufbewahrung **eingeschlossen werden.**

Es hat sich als praktisch herausgestellt, große, leicht zerfallende Schnittte, z. B. Drüsen, ebenso zarte Objekte oder Serien, welche geordnet bleiben sollen, vor diesen Manipulationen auf den Objektträger zu befestigen. — »Aufkleben.« Dies bietet u. a. den Vorteil, daß man eine große Anzahl von Schnitten zugleich und daher rascher und gleichmäßiger behandeln kann. Unerläßlich ist das Aufkleben, wenn es sich um Anfertigung sogenannter Schnittserien, z. B. für embryologische Untersuchungen oder für Rekonstruktionen (siehe diese), handelt. Man hat beim Serienschneiden darauf zu achten, daß kein Schnitt verloren geht; ist dies doch geschehen, so ist dies sofort zu notieren (etwa so, daß man in den Serienkatalog einschreibt: Serie 1, Objektträger 2, Schnitt 3 fehlt). Die Weiterbehandlung von Paraffinschnitten, welche aufgeklebt werden sollen, ordnet sich folgendermaßen: Aufkleben, Paraffinbefreiung, Schnittfärbung, Einschluß.

133. Es soll zunächst die **Weiterbehandlung nichtaufgeklebter Paraffinschnitte und Zelloidinschnitte** geschildert werden. Die Weiterbehandlung nicht aufgeklebter Schnitte ist gut einzuüben, da dieselbe in der pathologisch-anatomischen Technik bei Schnelldiagnosen eine große Rolle spielt.

134. Paraffinschnitte werden vom Mikrotom mit Pinsel, resp. mit einer Nadel, direkt in ein flaches Schälchen, ent-

haltend eine der im § 73 angegebenen Flüssigkeiten, gebracht, in denen sich Paraffin löst, z. B. Xylol. Im Xylol müssen die Schnitte mindestens so lange verweilen, bis sich Paraffin löst, was man mit bloßem Auge sehen kann. Ist das Schneiden beendigt, so können die Schnitte zusammen weiter behandelt werden. Aus dem Xylol können die Schnitte direkt eingeschlossen werden, vorausgesetzt, daß die Einschlußmasse dies gestattet, also z. B. nicht wasserhaltig ist. Man verfahre dann nach § 157. Beim Übertragen des Schnittes benutze man Spatel und Nadel und sorge, daß der Schnitt sowohl auf dem Spatel, wie auf dem Objektträger glatt liegt. Sollen die Schnitte vor dem Einschluß gefärbt werden, so übertrage man sie aus dem Xylol mit Spatel und Nadel in ein Schälchen mit absolutem Alkohol und beginne dann zunächst mit der Färbung, z. B. der Hämalaunfärbung. Danach färbe man weitere Schnitte nach in Kapitel 8 angegebenen Methoden. Endlich schließe man die gefärbten Schnitte nach Kapitel 7 ein.

Es ist wichtig, zu wissen, daß Paraffinschnitte auch vor der Paraffinlösung gefärbt werden können, und zwar auch mit in Wasser gelösten Farben. Das Paraffin macht die Schnitte resistenter. Sie färben sich aber viel länger, wie bei gewöhnlichem Verfahren.

135. Es können aber auch die Schnitte vor dem Einschluß untersucht werden, was unter Umständen vorteilhaft ist, namentlich, wenn man dieselben aus dem Xylol in Flüssigkeiten von verschiedenem Lichtbrechungsvermögen überträgt und darin auf den Objektträger bringt und untersucht. Häufig bedient man sich hierzu des Nelkenöls (besitzt ein starkes Lichtbrechungsvermögen), in welches die Schnitte aus dem Xylol direkt übertragen werden können. Will man in Glyzerin untersuchen (siehe auch § 159), kommen die Schnitte aus dem Xylol in absoluten Alkohol, von da in 90%igen, 70%igen Alkohol, in destilliertes Wasser, in zu zwei Drittel, dann zur Hälfte mit Wasser verdünntes Glyzerin, je etwa eine Minute, endlich in reines Glyzerin.

136. Die **Zelloidinschnitte** dürfen nicht mit absolutem Alkohol in Berührung kommen, falls man Zelloidin erhalten haben will. Sie werden also, nachdem sie geschnitten sind, zunächst in ein Schälchen mit 70—80%igem Alkohol gebracht. Die Schnitte können gefärbt (außer in wenigen Farben, die in absolutem Alkohol gelöst sind), ausgewaschen usw., mit

95%igem Spiritus kurze Zeit behandelt (1 bis 3 Minuten, je nach der Dicke des Schnittes) und in Origanumöl, Zedernholzöl z. B., nicht aber in Nelkenöl, welches Zelloidin lösen würde, aufgehellt werden. Nach Entfernung des Öles (etwa mit Xylol) erfolgt Einschluß in Kanadabalsam (s. § 157).

137. Als Aufhellungsmittel für Zelloidin wurde zuerst von Hauptmann Urban die konzentrierte Karbolsäure vorgeschlagen. Dies wurde von Weigert mit Erfolg in der Weise modifiziert, daß er auf ein Volumen krystallinischer Karbolsäure, je nach Bedarf ein, zwei oder drei Volumina Xylol zusetzt, und, um das Ganze wasserfrei zu erhalten, verfährt er wie beim absoluten Alkohol (s. § 74). In einzelnen Fällen kann verlangt werden, die Flüssigkeiten, mit denen der Schnitt gerade in Berührung ist, rasch zu entfernen. In diesen Fällen tupft man die Schnitte auf dem Objektträger mit Filtrierpapierbäuschen ab (Welch, 76), indem man mit einem Finger drückt und streicht. Diese scheinbar rohe Prozedur läßt die Schnitte intakt und auf dem Objektträger liegend.

5. Kapitel.

Aufkleben.

138. Es ist zweckmäßig, schon der Raum- und Zeitersparnis halber, aber namentlich, um die Schnitte während der Behandlung vor mechanischen Angriffen möglichst zu schützen, dieselben auf den Objektträger aufzukleben.

Will man Raum und Material sparen, so klebe man Schnitte auf Deckgläschen. Das empfiehlt sich z. B. bei Behandlung der Schnitte mit teueren Substanzen oder bei Herstellung von Präparaten in einzelnen Schnitten in großer Zahl, z. B. für Kurse. Statt Deckgläschen kann man auch Plättchen aus Marienglas verwenden.

139. Man gewöhne sich von Anfang an, die Schnitte in bestimmter Ordnung, z. B. wie Buchstaben und Zeilen im Buche, aufzulegen. — Um sich die Reihenfolge der Objektträger und eine bestimmte Folge der darauf aufgeklebten Schnitte zu merken (was z. B. für Serienschnitte unumgänglich notwendig ist), pflegt man dieselben mit aufeinanderfolgenden Zeichen, Nummern oder Buchstaben zu markieren. Dazu bediene man sich am zweckmäßigsten eines Schreibdiamanten. Bezeichnet wird stets an derselben

Stelle des Objektträgers, z. B. in der Ecke rechts unten. — Empfehlenswert sind auch die käuflichen Glastinten, mit welchen man am besten eine große Anzahl von Objektträgern vor Benutzung numeriert.

Die sonst üblichen Mittel zur Bezeichnung der Objektträger, wie gewöhnliche Schreibtinte, Ölstifte usw., sind nicht zu empfehlen, da sie leicht und namentlich bei eventueller Weiterbehandlung verschwinden und dabei die Präparate verunreinigen.

Je nach der Wahl der Masse, welche zum Aufkleben verwendet wird, richtet sich die nachfolgende Behandlung der aufgeklebten Schnitte. Ist die klebende Masse in Wasser, Alkohol usf. unlöslich, so ist selbstverständlich auch die Färbung der bereits aufgeklebten Schnitte nicht ausgeschlossen.

Man kann Paraffinschnitte, auch Paraffinzelloidinschnitte mit Wasser (sehr schwachem Spiritus), Eiweiß aufkleben; weniger gebräuchlich sind Schellack, Kollodium; Zelloidinschnitte nach dem Verfahren von Weigert, Obregia, Apáthy und Argutinsky.

140. Aufkleben mit Wasser (nur im Notfall, wenn die Objektträger absolut nicht benetzt werden, mit sehr schwachem Spiritus) ist die einfachste Methode, die aber einer gewissen Vorsicht bedarf und deshalb in den Händen der Anfänger nicht immer dasjenige leistet, was sie leisten soll; sie ist von Gaule (81), Altmann (Spiritus) und Gulland (91) (Wasser) empfohlen.

Die Fixierung der Schnitte beruht in diesem Falle auf einer Kapillar-Attraktion.

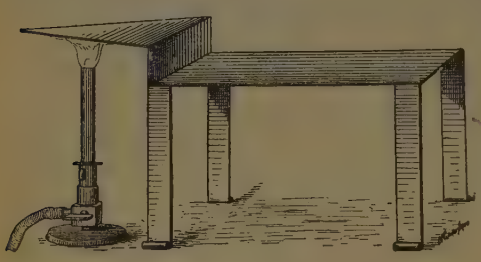
Mit Osmiumsäure und Osmiumsäuregemischen fixierte Objekte lassen sich nur unsicher oder nicht mit Wasser aufkleben.

Sehr sorgfältig gereinigte Objektträger werden mit Wasser oder sehr verdünntem Spiritus gleichmäßig benetzt. Man breite nun die Paraffinschnitte auf der Wasser-, resp. Spiritusschicht, aus. Dann erwärme man (falls die Schnitte sich noch nicht ausgebreitet haben) den Objektträger leicht (Paraffin darf nicht schmelzen), wobei sich die Schnitte glatt legen; entferne mit Filtrierpapier die überschüssige Flüssigkeit, ordne die Schnitte definitiv, etwa mit einem Pinsel, und lasse die Schnitte, die gut vor Staub geschützt werden müssen, 24 Stunden lang, eventuell im Thermostaten, bei 35° C trocknen. (Thermostat bei trockener Witterung nicht unbedingt nötig.) Die so getrockneten Schnitte können

bei einer gewissen Vorsicht allen möglichen Behandlungen unterzogen werden.

Man kann so fixierte Schnitte, sagt Altmann, sogar künstlich verdauen, ohne daß die unveränderten Teile des Schnittes ihre Lage zum Objektträger im geringsten wechseln.

141. Mit Vorteil legt man die Objektträger mit den auf Wasser ausgebreiteten Schnitten auf einfache Wärmtische von Metall (Born, 88), siehe Fig. 1, deren Tischplatte, gewöhnlich aus Eisenblech angefertigt, am einen Ende aufgebogen ist; eine unter den aufgebogenen Arm des Tisches gestellte Lampe läßt die Temperatur des Tisches und damit des daraufgelegten Objektträgers beliebig regulieren. Die Schnitte legen sich, noch ehe das Paraffin zum Schmelzen kommt (was sorgfältig vermieden werden soll), ganz glatt.



Figur 1. Wärmtischchen nach G. Born.

142. Handelt es sich nicht um Serien, so kann man Paraffinschnitte direkt vom Mikrotom in eine Schale mit lauwarmem Wasser übertragen; hier legen sie sich glatt. Man fängt dieselben mit dem Objektträger aus dem Wasser auf und läßt sie auftrocknen.

143. P. Mayer (96) empfiehlt, die Paraffinschnitte statt mit Wasser oder schwachem Alkohol mit der Farblösung selber aufzukleben. Dabei wirkt der Farbstoff, wenn man die Schnitte, um sie sich dehnen zu lassen, in die Wärme bringt, meist ebenso rasch wie energisch, und so lassen sich Färbungen erzielen, die sonst nicht leicht zustande kommen. Man muß nur dafür Sorge tragen, daß die Schnitte auf der Farblösung anfänglich schwimmen, daß diese später gut mit Wasser abgespült wird, und daß die Schnitte wirklich ganz trocken sind, bevor man sie in Xylol (zum Entfernen des Paraffins) und von da in Balsam überträgt.

Diese wichtige Beobachtung, daß die Schnitte, ohne daß Paraffin entfernt zu werden braucht, auch für wässerige Lösungen permeabel sind, kann mit kleinen Modifikationen

in verschiedenen Fällen nutzbar gemacht werden, so beim Färben loser Schnitte, bei Behandlung der Paraffinschnitte mit Verdauungsflüssigkeiten etc.

144. Wegen der Raschheit des Verfahrens und Sicherheit der Resultate noch jetzt beliebt ist das von P. Mayer (83) eingeführte **Aufkleben mit Eiweifs.** Möglichst frische Hühnereier, etwa 3 Stück, werden aufgeschlagen, das Eiweiß in eine Schüssel abgelassen, wobei man sorgfältigst die Verletzung der Dotterhaut des Eigelbs zu vermeiden hat. Es wird einige Zeit mit einem Holzstabe geschlagen, und durch Filtrierpapier filtriert. Da Eiweiß sich ziemlich rasch zersetzt, so ist das Hinzufügen eines Kampferstückchens sowohl zu der filtrierenden Flüssigkeit, als zu dem Filtrat, sofort anzuraten. Eiweiß filtriert sehr langsam, man erhält aber doch nach 12 Stunden ein paar Kubikzentimeter Eiweiß. Zu diesem füge man ebensoviel des chemisch reinen Glyzerins, um das Präparat vor Vertrocknung zu schützen, dann ebenfalls ein kleines Stückchen Kampfer oder Natriumsalizylat hinzu und bewahre das Ganze in einem gut vor Staub geschützten Gefäß. Nachdem sich Glyzerin mit Eiweiß gemischt hat, was man durch Schütteln beschleunigen kann, ist es zum Gebrauche fertig. Beschleunigen kann man das Filtrieren auch, wenn man Eiweiß und Glyzerin zu gleichen Teilen vor dem Filtrieren mischt; es muß dann noch einige Zeit mit dem Stab geschlagen werden, ehe es filtriert wird.

Es wird auf einem gut gereinigten Objektträger etwa mit einem feinen Pinsel eine möglichst dünne Schicht des Eiweißes aufgetragen und mit reiner Fingerbeere oder einem Glasstabe geglättet. Auf diese so präparierte Fläche werden die Paraffinschnitte gelegt und eventuelle Falten, die aber nicht zahlreich sein dürfen, mit einem weichen Pinsel ausgeglichen und so aufgedrückt, daß sich keine Luftblasen zwischen Schnitt und Eiweiß befinden. Dabei liegt der Objektträger auf dem Tisch.

Will man einen vorgeschriebenen Raum, etwa die Größe eines Deckglases, vollkommen ausnützen, so kann man denselben auf einem Stück Papier mit Bleistift oder ähnlichem vorzeichnen und den Objektträger in passender Lage daraufleglen.

Ist eine gewünschte Menge Schnitte auf der so präparierten Eiweißfläche sortiert und aufgedrückt, so erwärme man das Ganze bis auf die Koagulationstemperatur des Eiweißes, etwa 70° C.

Dies geschieht, indem man den Objektträger kurze Zeit über einer kleinen Spiritus- oder Gasflamme erhitzt, bis Paraffin geschmolzen ist. Diese Methode gestattet ein rasches Arbeiten, ist jedoch mit Vorsicht anzuwenden, da das Präparat leicht durch zu starke Erhitzung beschädigt werden kann.

Die Schnitte kleben nun so fest, daß z. B. fließendes Wasser dieselben nicht wegschwemmt; es können damit alle folgenden Operationen, wie sie im weiteren angegeben werden, vorgenommen werden.

Bestimmten Reagenzien dürfen jedoch mit Eiweiß aufgeklebte Schnitte nicht ausgesetzt werden, und zwar derartigen, welche Eiweiß lösen und dadurch die Schnitte ablösen würden. Solche sind starke Säuren und Alkalien.

Man könnte also beispielsweise mit Borax-Karmin 12 bis 24 Stunden färben, ebenso lange mit einem $^1/_2$% Salzsäure enthaltenden Spiritus ausziehen, mit Spiritus waschen, mit absolutem Alkohol entwässern und einschließen. Man würde aber beispielsweise den übrigens nur für sehr spezielle Zwecke brauchbaren Karmin von Schneider (Karmin bis zur Sättigung gelöst in einer 45%igen Essigsäure) selbstredend aus angedeuteten Gründen (wegen der dabei mitwirkenden Essigsäure) zu vermeiden haben.

Ferner sind es bestimmte Farben, welche Eiweiß ablösen, z. B. Pikro-Karmin; andere nur in stärkeren Lösungen, z. B. Benzo-Azurin.

145. Henneguy, auch Reinke (95), beschicken Objektträger, Deckgläser oder Glimmerplatten mit sehr wenig Eiweißglyzerin und verstreichen dasselbe mit der Fingerbeere, bis scheinbar kaum eine Spur mehr vom Eiweiß vorhanden ist. Dann Erwärmen der Platten im Thermostat bei 70° (besser als über der Flamme), um das Eiweiß zu koagulieren. Diese Platten werden mit reichlichem Wasser beschickt, dann vorsichtiges Erwärmen, bis sich die Schnitte faltenlos ausgebreitet haben (Paraffin darf nicht schmelzen). Dann Trocknen im Thermostat bei 30—35° C, einige Stunden genügen in der Regel.

146. Enthalten Schnitte viel Bindegewebe oder sind sie zu groß, so schlägt Michaelis folgenden Weg vor: Die Schnitte werden auf Wasser von etwa 45° C glatt gemacht, mit dem Objektträger aufgefangen und mit glattem Schreibpapier fest an denselben angedrückt. Man zieht dann das Papier mit dem Schnitt ab, schneidet das Papier dicht um den Schnitt herum ab und klebt den Schnitt samt Papier fest andrückend auf einen anderen

Objektträger mit Eiweiß § 144. Man bringt das Eiweiß zum Koagulieren etc. Bei Weiterbehandlung fällt das Papier ab.

147. Die in Zelloidin-Paraffin eingebettet gewesenen Schnitte können wie Paraffinschnitte mit Wasser aufgeklebt werden. Es empfiehlt sich jedoch (Apáthy), die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten in $^1/_2$ %ige Zelloidinlösung in Alkohol-Äthyläther (3:1) einzutauchen. Sind dieselben getrocknet, so können sie in gewöhnlicher Weise weiter behandelt werden.

148. Schnitte, mit Zelloidin eingebetteten Objekten entnommen, welche, wie im § 130 angegeben wurde, feucht geschnitten werden, können in der bisher angegebenen Weise nicht aufgeklebt werden.

Eine von Weigert (85) (speziell für das Zentralnervensystem) für große Schnitte ausgearbeitete Methode läßt jedoch auch hier die **Behandlung vieler Schnitte auf einmal** zu.

Die Schnitte werden mit Streifen aus ungeleimtem Papier (sogenanntem Klosettpapier) in einer bestimmten Reihenfolge aufgefangen, indem man das Papier auf die auf dem Messer befindlichen Schnitte legt; sie bleiben daran haften, und das Papier kann behutsam mit dem Schnitt abgenommen werden. Damit der Papierstreifen samt den Schnitten nicht trocknet, legt man ihn, während man den nächsten Schnitt anfertigt, auf eine mit 70%igem Alkohol befeuchtete Lage von Fließpapier; mit dem nächsten Schnitt wird in derselben Weise verfahren, bis man eine gewisse Anzahl von Schnitten in einer gewünschten Reihenfolge auf dem Papier erhalten hat.

Es wird nun auf einer entsprechend großen Glasplatte dünnflüssiges Kollodium (welches man eventuell mit Schwefeläther verdünnen kann) nach Art, wie es die Photographen tun, ausgebreitet. Wenn die Kollodiumschicht trocken geworden ist (ein paar Minuten genügen), drückt man die Schnitte, indem man über die Papierfläche vorsichtig mit der Hand streicht, an die dünne Kollodiumschicht an. Das Papier kann nun vorsichtig abgezogen werden, die Schnitte bleiben an der Kollodiumfläche in der Regel haften. Dieselben dürfen nicht eintrocknen und müssen deshalb mit 70%igem Spiritus feucht gehalten werden. Es wird eine zweite Kollodiumschicht in einer ähnlichen Weise, wie die erste, auf der Glasplatte mit den Schnitten, die man zuvor mit daraufgelegtem Fließpapier getrocknet hat, ausgebreitet. Ist diese zweite Schicht ebenfalls trocken

geworden, so muß man die Platte samt den Schnitten sofort in die Farbe übertragen, wo die Schnitte mit der Kollodiumschicht von der Glasplatte abgehen und miteinander weiter behandelt werden können. Vor dem Einschließen kann man die Kollodiumplatte mit der Schere beliebig zuschneiden.

149. Nach einer in letzter Zeit oft angewandten Methode von Obregia (90) werden Zelloidinschnitte zunächst auf Papierstreifen, wie vorhin, und dann auf Zuckerplatten überführt. Letztere werden in folgender Weise bereitet: Gut gereinigte Glasplatten werden mit einer sirupdicken Lösung von gewöhnlichem Zucker (in Wasser oder ca. 30%igem Alkohol) übergossen oder besser mit einem Pinsel bestrichen. Dann werden die Platten in einem Thermostat bei ca. 30° getrocknet. Die Oberfläche des Zuckers muß an gelungenen Platten glatt erscheinen, und die Zuckerschichte darf keine Blasen haben. — Die Schnitte werden mit dem Papier auf die Zuckerplatten gelegt und leicht angedrückt, dann wird das Papier langsam abgehoben, so daß die Schnitte am Zucker kleben bleiben. Ist der an den Schnitten haftende Alkohol zum größten Teil verdunstet, so werden die Schnitte mit einer mitteldicken Zelloidinlösung in dünner Schicht übergossen. Ist diese getrocknet, so werden die Platten in Wasser gelegt; der Zucker löst sich und damit auch die durch die aufgegossene Zelloidinschicht als Serie vereinigten Schnitte, welche in gewöhnlicher Weise gefärbt und weiter behandelt werden können.

Vermittelst dieser Methode kann man auch Paraffinschnitte, wenn es nötig ist (z. B. zur Weigertschen Färbung), in Zelloidinschnitte umwandeln.

150. Apáthy (87, 88) bringt die Zelloidinschnitte auf Bergamottöl, das grün sein, nicht nach Terpentinöl riechen und sich mit 90%igem Alkohol vollkommen mischen muß. Ehe die ausgebreiteten Schnitte untersinken, zieht man einen nach dem anderen mit einer Nadel an ihren Platz auf ein in das Öl eingetauchtes Stück (so breit wie der Objektträger und dreimal so lang wie das Deckglas) Pauspapier. Dann hebt man letzteres aus dem Öl, läßt abtropfen, trocknet die andere Seite des Papiers auf Filtrierpapier, legt es dann mit den Schnitten auf einen ganz trockenen Objektträger und drückt es mit Filtrierpapier fest. Dann rollt man es so auf, daß die Schnitte auf dem Glase bleiben, wo sie mit einem Streifen glatten Fließpapiers durch Andrücken vom überschüssigen Bergamottöl

befreit werden. Gefärbte Schnitte werden direkt mit Kanadabalsam eingeschlossen, erst zu färbende setzt man Dämpfen von Alkohol und Äther einige Minuten aus, bringt sie auf 15 Minuten in 90%igem Alkohol und kann dann in Farben färben, welche 70%igen oder stärkeren Alkohol enthalten. In wässerige Lösungen kann man die Schnitte bringen, wenn man sie auf dem Papier so ordnet, daß sich das Zelloidin an den Rändern deckt, damit sie durch den Ätherdampf verkleben und sich zusammen als Membran, die dann weiter behandelt wird, im Wasser vom Glase abheben.

Neuerdings verfährt Apáthy (89) so, daß er die Schnitte auf dem mit gelbem Vaselin eingefetteten und mit 70—90%igem Alkohol benetzten Messer selbst entsprechend der Deckglasgröße mit einer Nadel ordnet. Die Schnitte müssen mit den Zelloidinrändern übereinandergreifen, oder sich mindestens berühren. Abtrocknen der Schnitte mit Filtrierpapier und Bepinseln mit konzentrierter Zelloidinlösung, 5 Minuten verdunsten lassen. Dann benetzt man sie mit 70%igem Alkohol und schneidet weiter, oder legt, wenn man nicht mehr schneiden will, oder das Messer ganz voll ist, das Messer samt den Schnitten in 70%igen Alkohol. Darin wird das Zelloidin als einheitliche Membran gehärtet, welche mit einem Skalpell vom Messer weggenommen und weiter behandelt wird. Man kann solche Membranen direkt auf den Objektträger legen, die Ränder mit Äther und Alkohol festkleben und dann färben.

151. Um die Zelloidinschnitte direkt auf dem Objektträger zu befestigen, empfiehlt Apáthy folgende Methode: ein ganz reiner Objektträger wird mit einer dünnen (2%igen) Zelloidinlösung bepinselt und getrocknet. — Damit die Zelloidinschicht bei folgenden Prozeduren nicht vom Objektträger sich ablöst, bringe man vorher auf diesem ein paar dünne Linien mit verdünntem Hühnereiweiß (etwa entsprechend den Deckglasrändern, Eiweißrahmen) an; man läßt das Eiweiß durch Erhitzen koagulieren. An den rauhen Eiweißstreifen haftet das Zelloidin nun fest. — Auf die so präparierte und befestigte Zelloidinschicht werden die (etwa auf Wasser) glatt gemachten Schnitte nach Wunsch geordnet, mit feinstem Fließpapier getrocknet und mit Alkohol-Äther-Dämpfen kurze Zeit in geschlossenem Gefäß behandelt, wodurch die Schnitte an die Zelloidinschicht anschmelzen. Weitere Behandlung, wie gewöhnlich, unter

Vermeidung von zelloidinlösenden Flüssigkeiten wie Alkohol von 90% aufwärts, Äther etc.

152. Argutinsky (1900) empfiehlt folgendes Verfahren zum Aufkleben von Zelloidinschnitten. Eine Anzahl sorgfältig gereinigter Objektträger wird (wie beim Aufkleben von Paraffinschnitten siehe § 144) mit einer gleichmäßig dünnen Eiweißschicht beschickt und letztere durch Erhitzen auf beinahe 100° C zum Gerinnen gebracht. Die in 70%igem Alkohol geschnittenen Zelloidinschnitte werden in einem Schälchen mit 70%igem Alkohol sorgfältig entfaltet, dann auf den, wie angegeben, vorbereiteten Objektträger übertragen und geordnet. Dann wird der den Objektträger und die Schnitte reichlich bedeckende Alkohol am Rande des Glases mit Filtrierpapierblättchen vorsichtig abgesogen. Um nun das Aufkleben der Schnitte zu bewirken, wird ein etwa acht bis zwölfmal gefalteter Streifen von glattem Filtrierpapier auf das mit Schnitten beschickte Objektglas gelegt. Durch ziemlich starkes Streichen mit dem Finger wird das Filtrierpapier an die noch nasse Oberfläche des Objektglases gepreßt, wodurch der Alkohol aufgesaugt und die Schnitte an die Eiweißschicht sorgfältig angedrückt werden. Dann wird der Filtrierpapierstreifen abgenommen, und der Objektträger kommt mit den fest klebenden Schnitten sofort (damit sie nicht austrocknen) in ein Gefäß mit destilliertem Wasser, um sogleich oder später weiter behandelt zu werden. Sie ertragen alle Flüssigkeiten, sofern solche das Eiweiß oder das Zelloidin nicht auflösen (starke Säuren und absoluter Alkohol z. B. sind ausgeschlossen). Will man erst nach Tagen färben, so bewahrt man die Objektträger in 70%igem, resp. schwächerem Alkohol, auf.

Tellyesniczky (04) nimmt statt des Eiweiß-Glyzerins eine sehr stark mit destilliertem Wasser verdünnte (1 : 5) Eiweißlösung ohne Glyzerin.

6. Kapitel.

Paraffinbefreiung.

153. Die Befreiung des Schnittes von Paraffin geschieht durch Lösung desselben in einer der oben (§ 73) angegebenen Flüssigkeiten; billig und wohlgeeignet hierfür ist **Xylol.**

Der Objektträger mit den (nach Kapitel 5) aufgeklebten Schnitten wird auf 3—5 Minuten in ein Glas (siehe § 176)

mit Xylol gesteckt. Gleichzeitige Weiterbehandlung mehrerer Objektträger auch mit anderen Flüssigkeiten ist in Porzellanschalen mit Rillen (siehe § 176) möglich.

Mit Eiweiß-Glyzerin aufgeklebte Schnitte müssen stets vor der Weiterbehandlung und dem Einschließen aus dem Xylol noch einmal durch absoluten Alkohol überführt werden, um Glyzerin in Lösung zu bringen. Man hat vielfach mit schlechten Resultaten zu kämpfen, wenn man aus dem Xylol direkt in Xylol-Kanadabalsam einschließt, da ja das Aufklebe-Eiweiß mit Glyzerin gemischt ist. Dieses, wenn es auch sehr wenig ist, mischt sich nicht mit Xylol und erzeugt Flecken.

7. Kapitel.

Einschliefsen.

154. Nachdem die Schnitte in der bisher angegebenen Weise behandelt worden sind, können sie untersucht werden. Hierbei empfiehlt es sich, namentlich gefärbte Schnitte in stärker lichtbrechenden Medien zu betrachten, z. B. Xylol, Nelkenöl, Glyzerin (s. § 135).

155. Es ist wünschenswert, Schnitte für spätere Untersuchungen aufbewahren zu können. Die Schnitte werden zu diesem Zweck in eine **Einschlufsmasse** eingeschlossen, welche durchsichtig sein muß und die Schnitte wie die Farben, womit dieselben gefärbt sind, möglichst wenig verändern soll. Viele Medien eignen sich hierzu wenig. Xylol verdunstet rasch, Nelkenöl ändert manche Farben. Glyzerin hat sich für viele Fälle zweckdienlich erwiesen.

Bei flüssig bleibenden Einschlußmassen muß der Rand des Deckgläschens mit dem Objektträger durch eine Kittmasse verbunden werden: Umranden, um das Abfließen desselben zu verhindern.

156. Die besten Einschlußmassen sind Harze, welche zunächst in Lösung auf den Schnitt gebracht werden, dann trocknen, fest werden und damit zugleich das Deckgläschen festhalten. Man muß jedoch im Auge behalten, daß die Harzmassen ein hohes Lichtbrechungsvermögen besitzen und daher ungefärbte Gewebe sehr wenig deutlich erkennen lassen.

Clarke Lackhart (57) hat zuerst die Methode der Aufhellung mit Terpentinöl und des Einschließens in Kanadabalsam angegeben.

157. Einschluſs in Kanadabalsam. Anfertigung des Kanadabalsams. Der im Handel käufliche Kanadabalsam ist meist in Terpentinöl gelöst. Er muß in einer Schale bei nicht zu hoher Temperatur zum Trocknen eingedampft werden und wird dann wieder in Xylol gelöst. Anstatt Xylol können auch andere Lösungsmittel, z. B. Chloroform, verwendet werden.

Der so zubereitete Kanadabalsam wird in Flaschen aufbewahrt, deren Stopfen einen bis nahe dem Boden der Flasche reichenden Glasstab trägt, um ein tropfenweises Entnehmen des Kanadabalsams zu gestatten.

Einschließen in Kanadabalsam. Der Schnitt, welcher in Xylol oder einer der in § 73 angeführten Flüssigkeiten gewesen sein muß, wird auf den Objektträger gebracht, ein Tropfen Kanadabalsam kommt darauf, und ein Deckglas wird unter Vermeidung großer Luftblasen aufgelegt. Kleine Luftbläschen schaden nicht, sie verschwinden später von selbst.

Aufgeklebte Schnitte, die nach § 153 behandelt sind, kommen, um den darin befindlichen Alkohol zu entfernen, noch einmal in Xylol, dann läßt man abtropfen (nicht trocknen!), bringt einen Tropfen Kanadabalsam auf den Schnitt und deckt rasch mit einem Deckgläschen zu. Man muß sich hüten, den Objektträger anzuhauchen, da das hierbei sich niederschlagende Wasser eine störende Trübung ergibt.

Die Präparate sind in den nächsten Tagen und Wochen bisweilen nachzusehen und, wenn durch Verdunstung des Xylols der Raum unter dem Deckglas nicht mehr gefüllt ist, nachzugießen. Dies geschieht, indem man einen Tropfen Kanadabalsam an den Rand des Deckglases auf den Objektträger setzt. Man kann durch vorsichtiges Erwärmen des Präparats über der Flamme und vorsichtiges Drücken auf das Deckglas nachhelfen. (Man kann auch die Blasen zuerst mit Xylol füllen und dann am Rande Kanadabalsam zusetzen, welcher an Stelle des verdunstenden Xylols eingesaugt wird.)

Sollen Präparate rasch trocknen — und dies kann nötig werden, wenn sie mit Ölimmersionen betrachtet werden sollen und ein Abwischen des Öltropfens ohne Zerstörung des Präparats wünschenswert ist —, so können solche Präparate auf etwa 24 Stunden in einen Thermostat bei 45° C ohne Schaden gebracht werden.

Von selbst trocknen die Präparate desto rascher, je dicker der angewandte Kanadabalsam war, d. h. je weniger

er Xylol oder dgl. enthielt; meist genügen etwa 14 Tage, um die Präparate wenigstens transportfähig zu machen.

158. Statt Kanadabalsam kann man in derselben Weise Dammarharz (Pfitzner, 82) anwenden. Das letztere, namentlich in Benzin und Terpentinöl zu gleichen Teilen gelöst, hat den Vorzug, nicht so stark wie Kanadabalsam aufzuhellen.

159. Einlegen in Glyzerin. Wird jetzt hauptsächlich angewandt für Schnitte, welche nach der Färbung nicht mehr mit Alkohol in Berührung kommen sollen. Es bietet ferner den Vorteil, daß es weniger stark Licht bricht und daher ungefärbte Gewebe leichter erkennen läßt.

Auf die Schnitte, welche aus Alkohol, oder besser, aus Wasser oder Glyzerin selbst kommen müssen, wird ein Tropfen Glyzerin gebracht und das Deckgläschen aufgelegt. Dann wird, wenn das Präparat aufbewahrt werden soll, umrandet (siehe § 162).

Statt Glyzerin wurde früher in derselben Weise **Kali aceticum** verwendet. Man gebraucht eine 33%ige Lösung in destilliertem Wasser. M. Schultze (71).

160. Will man Präparate aus Toluol, Xylol etc. in weniger wie Kanadabalsam brechende Medien einschließen, so verwende man Paraffinum liquidum. In dieser sirupähnlichen Flüssigkeit, welche nicht, wie Glyzerin z. B., hygroskopisch ist, sieht man feinere Strukturen viel deutlicher wie in Kanadabalsam. Für Dauerpräparate muß das Deckgläschen umrandet werden.

161. Für spezielle Zwecke, z. B. Amyloidfärbung, wird Lävulose als Einschlußmittel gebraucht. Fruchtzucker wird mit etwas weniger wie gleichem Volumen Wasser angerührt und in Thermostat bei 37° C auf 24 Stunden gestellt. Die Lösung muß ganz dick sein. Ehrlich.

162. Die **Umrandung** geschieht, indem man einen dicken Draht über der Flamme erhitzt, mit demselben von der Umrandungsmasse einen Tropfen abschmilzt und diesen zunächst an eine Ecke des Deckgläschens bringt, so daß er Objektträger und Deckgläschen verbindet, dann an die anderen Ecken, und nun die Seiten zuschmilzt, indem man mit dem heißen Stabe den Tropfen an den Seiten entlangführt. Der Verschluß soll ein vollständiger sein, dabei aber muß beachtet werden, daß der Rand nicht zu weit auf die Fläche des Deckglases übergreift.

Vorbedingung für das Umranden ist, daß der Tropfen Einschlußflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases

hervorquillt. Ist dies doch geschehen, so muß er vor der Umrandung sorgfältig abgewischt werden.

Als **Umrandungsmassen** können dienen:

163. Paraffin. Dasselbe ist für den dauernden Einschluß wenig zu empfehlen.

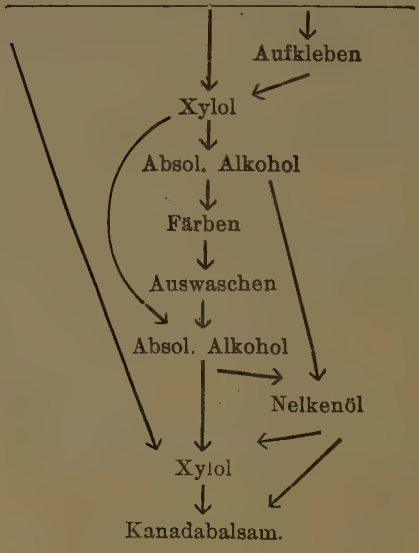
164. Paraffin und Kanadabalsam, Apáthy (89), Gleiche Teile Paraffin (von 60° Schmelzpunkt) und Kanadabalsam werden in einer Porzellanschale so lange erhitzt (Vorsicht!), bis keine Terpentindämpfe mehr aufsteigen oder mit terpentinfreiem Kanadabalsam zu gleichen Teilen in der Wärme gemischt (siehe § 157).

165. Der **Krönigsche Lack** (86) ist eine sehr gute Umrandungsmasse. Anfertigung: 2 Teile Wachs werden geschmolzen, hierzu stückweise 7—9 Teile Kolophonium unter Umrühren zugesetzt. (Vorsicht, da die Masse Feuer fangen kann!) Man kann die Masse durch Gaze heiß filtrieren.

Vor Anwendung einer Ölimmersion empfiehlt es sich, den Rand mit alkoholischer Schellacklösung zu überstreichen.

166. Der Dr. **Kaisersche Maskenlack**, der sich namentlich für das Umranden mit dem Drehtisch (runde Deckgläschen) empfiehlt, ist käuflich.

167. Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts.



8. Kapitel.

Die Färbung.

168. Betrachtet man einen dünnen Schnitt, welcher in der bisher angegebenen Weise angefertigt und eingeschlossen ist, so sieht man noch sehr wenig, da das Lichtbrechungsvermögen allein die verschiedenen Gewebe nur wenig unterscheiden läßt.

Deutlicher sieht man gefärbte Objekte, z. B. natürliche Färbungen, Pigmente, Pigmentzellen. Viele Fixierungsmethoden färben bestimmte Gewebe in einer Weise, welche dieselben deutlicher erkennen läßt, z. B. Osmiumsäure, Chromsäure, Pikrinsäure.

Mit Vorteil bedient man sich jedoch gewisser Farbstoffe, um die Gewebe zu färben.

169. Es ist ein erstrebenswertes Ziel einer auf wissenschaftlicher Erkenntnis basierenden Färbetechnik, sich darüber klar zu werden, mit welchen Vorgängen wir es bei den verschiedenen Färbungen zu tun haben. Doch ist dies heute noch keineswegs für alle Fälle sichergestellt. Eine Reihe von Färbungen beruht zweifellos auf chemischen Vorgängen, so z. B. die Berlinerblaureaktion zum Nachweis von Eisen in Schnitten, ferner die Reduktion von Osmiumsäure durch bestimmte Fette usw. In solchen Fällen sind wir berechtigt, von einer mikrochemischen Färbung zu sprechen. Schwieriger ist die Beurteilung des Vorganges, wenn es sich etwa darum handelt, daß ein Gewebsteil einen ihm zugeführten Farbstoff etwas rascher aufnimmt oder beim Auswaschen länger festhält als ein anderer. Eine Widerlegung der chemischen und eingehende Begründung der physikalischen Färbetheorie versuchte neuerdings A. Fischer (99). Derselbe behandelt einige der wichtigsten Beweismittel der chemischen Theorie, wie die Metachromasie, die Doppelfärbung mit Differenzierung, verfolgt auch die Elektion aus Farbgemischen bis auf das primäre Absorptionsvermögen zurück und erkennt dasselbe als mechanisch erklärbar. (Vgl. dagegen M. Heidenhain, 03.)

Wenn wir also auch die Mehrzahl der Färbungen nicht als mikrochemische Reaktionen bezeichnen dürfen, so haben dieselben doch den Wert einer tinktoriellen Reaktion und gestatten uns, Schlüsse zu ziehen, die unter Umständen an Sicherheit hinter den durch mikrochemische Reaktionen gestützten nur wenig zurückbleiben. Wenn es z. B. gelingt,

vermittelst bestimmter Methoden bestimmte Gewebe und Gewebsteile, z. B. Kerne, Zellgranula, elastische Fasern, kollagene Bindegewebsfibrillen, oder Stoffe wie Schleim, Fett und ähnliches so zu färben, daß eben nur diese allein und zwar stets gefärbt werden, so können wir mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß wir es, wenn eine solche Färbung in einem anderen Präparat auftritt, auch wieder mit demselben Gewebsteil, demselben Stoffe zu tun haben. Dabei ist aber stets im Auge zu behalten, daß sehr oft ganz verschiedene Gewebsteile ein gleiches Verhalten gegen Farbstoffe zeigen können. Es würde daher zu falschen Resultaten führen, wollte man sich gleichfärbende Dinge stets für gleich halten. Solche Schlüsse dürfen nur bei besonderer Vorsicht und einer gewissen Erfahrung gezogen werden. Als sicherster Grundsatz der Färbetechnik muß daher gelten: was sich bei gleicher Behandlung verschieden färbt, ist auch verschieden.

170. Da von verschiedenen Fabriken unter demselben Namen oft nicht dieselben Farbstoffe geliefert werden, so ist zu beachten, daß sich die folgenden Angaben auf Farbstoffe beziehen, welche von Dr. G. Grübler & Co. in Leipzig bezogen wurden.

171. Man hat schon früh bemerkt, daß es bestimmte Gewebsteile sind, welche eine Reihe von Farbstoffen mit größerer Intensität aufnehmen und festhalten, als andere; solche sind z. B. die Kerne. Kernfärbung.

Um eine gute Färbung, z. B. **Kernfärbung**, zu erhalten, ist das Verfahren stets folgendes: Man bringt den Schnitt in die betreffende Farbstofflösung. Nachdem dieselbe eine bestimmte Zeit eingewirkt hat, überträgt man den Schnitt in eine Flüssigkeit, in welcher der überschüssige Farbstoff in Lösung geht, z. B. Wasser oder Alkohol; man wäscht den Schnitt aus. Die Kerne sind es dann, welche allein den Farbstoff festhalten, und zwar meist nur ein Teil des Kerns, das Chromatin.

172. Läßt man den Schnitt nur so lange in der Farbe, bis die Färbung eine genügende ist, so spricht man von progressiver Färbung; beläßt man ihn länger darin, bis er überfärbt ist, in welchem Fall man dann auch länger mit geeigneten Flüssigkeiten auswaschen (differenzieren) muß, so spricht man von regressiver Färbung. Letzteres Verfahren ist besonders für die Färbung mit manchen Teerfarbstoffen (siehe diese) von großer Bedeutung.

173. Gefärbt werden entweder ganze Stücke vor dem Schneiden, **Stückfärbung**, oder Schnitte, **Schnittfärbung**.

Die erstere gestattet rascheres Arbeiten, die letztere bietet z. B. folgende Vorteile: Es kann die Färbung unter dem Mikroskop stets kontrolliert werden; man kann sich vieler Farben bedienen, welche zur Stückfärbung nicht angewendet werden können. Vor allem gehört hierher die Mehrzahl der Mehrfachfärbungen. Man kann unter Umständen auch beide Färbungsarten verbinden und dasselbe Objekt zuerst im Stück und dann im Schnitt färben.

174. Es empfiehlt sich, bei Einübung der Färbetechnik mit Hämatoxylin zu beginnen (etwa mit Hämalaun, siehe § 186), und zwar zunächst mit dem Färben nicht aufgeklebter Schnitte, erst in zweiter Linie mit dem historisch ältest angewandten Farbstoff, dem Karmin, zu färben, hierbei auch die Stückfärbung einzuüben und dann sich mit den verschiedenen Anilinfarben zu befassen.

175. Bei der Färbung verfährt man im allgemeinen folgendermaßen:

Nicht aufgeklebte Schnitte werden mit Spatel und Nadel in ein Uhrschälchen gebracht, welches etwa 5 ccm Farbe (z. B. Hämalaun) enthält. Die Schnitte müssen hierbei wie bei den folgenden Manipulationen stets glatt auf dem Spatel liegen.

Ist die Farblösung nicht alkoholisch, sondern wässerig, so empfiehlt es sich, die Schnitte (welche in der Regel nach § 134 von Paraffin befreit sind) aus Alkohol nicht direkt in die Farbe (z. B. Hämalaun) überzuführen, sondern vorher in Wasser, oder bei Hämalaun, in eine 1—2%ige Alaunlösung und sie darin einige Minuten zu belassen, da der im Schnitt enthaltene Alkohol mit der Farbe in unserem Fall einen Niederschlag geben könnte, welcher störend wirkt. Aufgeklebte Schnitte können ohne fühlbaren Schaden von absolutem Alkohol in Wasser übertragen werden; bei zarten, nicht aufgeklebten Schnitten empfiehlt sich hier stets, eine oder mehrere Mischungen einzuschalten, z. B. 50% und 70% oder 40, 60, 80% u. dgl., um die die Gewebe lädierenden starken Mischungsströme zu vermeiden.

Ist die Zeit vorbei, welche die Schnitte in der Farbe zu bleiben haben und welche im folgenden jedesmal angegeben ist, so werden die Schnitte aus wässerigen Farben (z. B. Hämalaun) in eine größere Schale mit Wasser übertragen, wo sie wenigstens 10 Minuten ausgewaschen werden. (Beläßt man sie nach Hämalaunfärbung längere Zeit, etwa 1 bis 2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine

distinktere. In alkoholischen Farblösungen gefärbte Schnitte werden in Alkohol ausgewaschen; je nachdem man dazu 50, 70, 95 etc. %igen oder absoluten Alkohol verwendet, erzielt man unter Umständen verschiedene Resultate.)

In Wasser ausgewaschene Schnitte müssen hernach wasserfrei gemacht werden; sie werden zu diesem Zweck mit Spatel und Nadel, je etwa 3 Minuten, erst in ein Schälchen mit 70%igem, dann 96%igem und endlich absolutem Alkohol übertragen, von da in ein ebensolches mit Xylol.

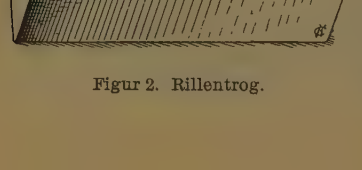
Namentlich das Übertragen in absoluten Alkohol muß mit großer Vorsicht geschehen, damit die Schnitte sich nicht rollen oder falten. Solche Falten bleiben, da die Schnitte in absolutem Alkohol so hart werden, daß ein nachheriges Glattlegen mit Instrumenten meist eine Beschädigung des Schnittes herbeiführt. Leicht zu korrigieren ist eine solche Faltung dadurch, daß man den Schnitt zurück ins Wasser bringt, wo die Faltung durch Bewegung des resistent gedachten Schnitts aufgehoben wird.

Aus dem Xylol werden die Schnitte auf den Objektträger gebracht; es kommt ein Tropfen Kanadabalsam und das Deckgläschen darauf (siehe § 157).

Nelkenöl ist zu vermeiden oder wieder gut mit Xylol auszuwaschen, weil Erfahrungen vorliegen, daß dasselbe nachteilig auf das Halten der Farben einwirkt.

In derselben Weise wie Schnitte können auch auf Deckgläschen befestigte Präparate (siehe § 297) behandelt werden. Doch werden die Deckgläschen nicht mit dem Spatel, sondern besser mit einer passenden Pinzette aus einer Flüssigkeit in die andere übertragen.

176. Viel einfacher ist die Operation mit aufgeklebten Schnitten. Als Gefäße, in welche die aufgezählten Flüssigkeiten gebracht werden, dienen hier passende Gläser, welche durchweg für die Färbetechnik auf dem Objektträger angewandt werden. Dieselben sind z. B. zylinderförmig, ohne Hals, mit einem Glasdeckel verschließbar. Sie sind so hoch, daß ein hineingestellter englischer Objekt-



Figur 2. Rillentrog.

träger noch um etwa 5 mm über den oberen Rand hervorsieht. Dieselben dürfen nicht so weit sein, daß ein hineingestellter englischer Objektträger noch zu Boden fallen kann. Beabsichtigt man, eine größere Anzahl von Objektträgern gleichzeitig zu färben, so bedient man sich mit Vorteil z. B. der Porzellantröge oder Glaströge mit Rillen (siehe Figur 2). Solche sind z. B. bei Martin Wallach in Kassel zu haben. Auch andere zweckmäßige Vorrichtungen sind dafür angegeben worden und werden vielfach gebraucht.

Die Objektträger, auf welchen die Paraffinschnitte nach § 138 ff. aufgeklebt sind, kommen zunächst in ein Glas (resp. einen Rillentrog) mit Xylol, von da in ein Glas mit absolutem Alkohol, je etwa fünf Minuten, dann in die Farbe. Auch hier wird, wenn nötig, Wasser zwischen Alkohol und Farbe eingeschaltet.

Im übrigen ist die Weiterbehandlung im wesentlichen dieselbe wie für nicht aufgeklebte Schnitte, nur ist zu beachten, daß aufgeklebte Schnitte eher etwas länger in den Flüssigkeiten verbleiben müssen, da letztere nur von einer Seite einzuwirken vermögen.

Bei aufgeklebten Schnitten kann eventuell am Mikroskop bei schwacher Vergrößerung schon während des Auswaschens durch Besichtigung der herausgenommenen Objektträger kontrolliert werden, ob die Färbung eine genügende ist, was z. B. leicht am deutlichen Hervortreten der Kerne erkennbar ist. Endlich hat sich der Anfänger beim Einlegen davor zu hüten, die falsche Seite des Objektträgers mit Kanadabalsam und Deckgläschen zu versehen und die Schnitte abzuwischen.

Karminfärbung.

Die Karmine, die jetzt mit Vorliebe benützt werden, sind die folgenden, von **Grenacher** (79) angegebenen (Alaun- und Borax-Karmin) und die P. **Mayer**schen (Karmalaun und Parakarmin).

177. Alaunkarmin. Anfertigung. 100 ccm einer 1- bis 5%igen Lösung des gewöhnlichen oder Ammoniak-Alauns werden mit $^1/_2$—1 g Karmin vermengt und $^1/_4$ Stunde anhaltend gekocht und dann nach dem Erkalten filtriert.

Färbung: Die Schnitte kommen aus dem Wasser in diese Lösung und sind nach $^1/_2$ Stunde gefärbt. Ausgewaschen mit Wasser und weiter mit Alkohol etc. behandelt,

zeigen sie eine fast ausschließliche Kernfärbung. Von sonstigen Gewebsteilen nehmen nur Muskeln etwas Farbe an. Sehr wichtig ist es, daß Alaun-Karmin, auch längere Zeit angewandt, nicht diffus färbt, und daß man ihn infolgedessen mit dem besten Erfolge zur Stückfärbung gebrauchen kann. Die Lösung schimmelt leicht, es muß derselben etwas Karbolsäure zugesetzt werden.

178. Karmalaun nach P. Mayer (92). Karminsäure 1 g und Alaun 10 g löse man warm (oder auch bei gewöhnlicher Temperatur) in 200 ccm destilliertem Wasser, lasse absetzen und gieße ab oder filtriere; Thymolzusatz. Die Lösung ist haltbar. Stückfärbung. Auswaschen mit Wasser (will man eine ganz reine Kernfärbung haben, mit Alaunlösung, die wieder mit Wasser fortzuschaffen ist, oder in hartnäckigen Fällen mit schwacher Säure).

Zur Färbung, namentlich größerer Stücke, besitzen wir folgende zwei Borax-Karminlösungen:

179. Die **wässerige Borax-Karminlösung** wird folgendermaßen bereitet: 8 g Borax werden mit 2 g Karmin in einem Mörser verrieben und 130 ccm destilliertes Wasser hinzugesetzt. Nach 24 Stunden wird dekantiert und filtriert. Stücke, namentlich mit Sublimat fixierte, $^1/_2$—1 cm im Durchmesser, verbleiben in dieser Lösung, in welcher sie wenig oder gar nicht angegriffen werden, 24 Stunden. Nun werden sie in eine $^1/_2$- bis 1%ige Salzsäure in 70%igem Spiritus übertragen und bleiben darin ebenso lange; sie werden dann mit reinem 70%igem Spiritus 1 Tag behandelt, in 95%igen übertragen, durchtränkt und geschnitten. Sie zeigen eine exakte Chromatinfärbung, die mit Safranin wetteifern kann. Eine nachträgliche Färbung zur Doppelfärbung ist selbstverständlich zulässig.

180. Will man die zu färbenden Stücke nicht in Kontakt mit Wasser bringen, so bediene man sich der spirituösen, resp. alkoholischen Karminlösung. Viel gebraucht wird die **alkoholische Borax-Karminlösung:**

2—3 g Karmin
4 g Borax
93 ccm Wasser

werden zur Lösung gebracht, 100 ccm 70%igen Alkohols zugesetzt, dann wird geschüttelt und filtriert. Färbung wie in § 179.

181. Für Stück- und Schnittfärbung hat P. Mayer (81) folgende Karminlösung empfohlen:

4 g Karmin werden in 15 ccm Wasser suspendiert, es werden dann 30 Tropfen Salzsäure unter Erwärmen hinzugefügt. Nun kommen 95 ccm Spiritus von 85% hinzu, das Ganze wird aufgekocht und mit Ammoniak neutralisiert, nach dem Erkalten filtriert. Färbung wie § 179.

Wegen der Entzündlichkeit der Alkoholdämpfe ist das Kochen von Spiritus mit Vorsicht auszuüben.

182. Parakarmin nach Paul Mayer (92):

Karminsäure 1 g
Chloraluminium $^1/_2$ g
Chlorkalzium 4 g
Spiritus 70% 100 ccm.

Es ist hiermit eine Farbe gegeben, die sehr einfach herzustellen ist und die, was von großem Wert, in 70%igem Spiritus gelöst ist; Schnitte und Stücke brauchen nach der Fixierung nicht mit Wasser in Berührung zu kommen. Aber auch die Anwendung der Farbe ist eine möglichst einfache; Parakarmin färbt rasch, und bei kleineren Stücken ist Überfärbung nicht zu befürchten, das Auswaschen geschieht ebenfalls in 70%igem Spiritus; auch ein paar zentimetergroße Stücke lassen sich in 24 Stunden durchfärben.

Ist Überfärbung eingetreten, so wäscht man in $^1/_2$%igem Chloraluminium, in 70%igem Spiritus, event. 2,5%igem Eisessig, in 70%igem Spiritus aus. Parakarmin ist hauptsächlich kernefärbend.

183. Cochenilletinktur nach P. Mayer (81). Pulverisierte Cochenille läßt man mehrere Tage lang mit dem 8—10fachen an Alkohol von 70% in der Kälte in Berührung, schüttelt sie öfters um und filtriert die klare Tinktur ab. Die Objekte bringt man vorher in Alkohol von 70% und wäscht nachher die überflüssige Farbe mit ebenso starkem Alkohol wieder ganz sorgfältig aus (zum Verdünnen der Tinktur muß gleichfalls Alkohol von 70% genommen werden).

184. Cochenille-Alaun. Man mische 25 g pulverisierter Cochenille und nahezu ebenso viel gebrannten Alauns und gebe es in ungefähr 800 g Aqua dest.; das Ganze wird in einer Abdampfschale unter beständigem Umrühren eine halbe Stunde lang bis auf 600 g eingekocht; Thymolzusatz und nach dem Erkalten mehrmals filtrieren. Darin werden z. B. Embryonen, je nach der Größe, eine Stunde bis einen Tag und darüber gefärbt und so lange ausgewaschen, als noch eine Farbwolke herausgeht. Vor der Färbung

müssen die Embryonen aus dem Alkohol so lange in Wasser kommen, bis sie untersinken und der Alkohol ganz entfernt ist. (Czokor, C. Rabl, 94.)

185. Stückfärbung mit Cochenille. Spuler verfährt in folgender Weise: 40 g gepulverter Cochenille wird in etwa 500 ccm dest. Wasser längere Zeit gekocht, nach dem Erkalten filtriert und auf 200 ccm eingedampft; zu diesem Cochenilledekokt setzt man 96%igen Spiritus zu, bis eine Fällung eintritt (ca. 300 ccm); nach dem Absetzen wird filtriert und auf 400 ccm eingedampft. Diese Lösung wird, mit gleichem Volumen Wasser verdünnt, zur Stückfärbung angewendet; man färbt 48 Stunden im Thermostaten bei 40° C. Die Stücke werden dann mit $^3/_4$%iger Eisenalaunlösung 24 Stunden und weitere paar Tage mit 1%iger Lösung desselben Salzes behandelt, mit dest. Wasser gewaschen und weiter, wie sonst, verfahren. Bei sehr großen Objekten ist das Vorbeizen mit $^1/_2$—$^3/_4$%iger Eisenalaunlösung zu empfehlen. Resultate: Basalkörner der Flimmerhaare, Schlußleisten, sonst viele Protoplasmastrukturen etc. erscheinen deutlich gefärbt.

Hämatoxylinfärbung.

Hämatoxylin (eingeführt in die mikroskopische Technik von Waldeyer) hat eine sehr mannigfache Anwendung gefunden, zur Färbung von Kernen und als Färbemittel für andere bestimmte Zwecke.

Es kann zur Schnittfärbung und zur Stückfärbung verwendet werden. (Stückfärbung: §§ 186, 191, 192, 197, 198.)

Voraus stellen wir Hämalaun, da hier für die Anfertigung der Farbe präzise Daten gegeben werden können.

186. Paul Mayer (91 und 92) empfiehlt eine Hämatein-Alaunlösung, **Hämalaun.** 1 g Hämatein wird in 50 ccm Alkohol von 90% unter Erwärmen gelöst und zu einer Lösung von 50 g Alaun in 1 l Wasser unter Thymolzusatz gegossen. Nach dem Erkalten wird event. filtriert. Hämatein ist unter dem Namen Hämateinum crystallisatum im Handel bekannt. Es wird in der Weise bereitet, daß man eine wässerige Hämatoxylinlösung (1:20) unter Erwärmen löst, mit 1 ccm Ätzammoniak versetzt und, vor Staub geschützt, abdunsten läßt. Die Vorzüge des Hämalauns sind große; die Farbe kann sofort nach dem Bereiten benützt werden (das Reifen fällt weg), färbt rasch, überfärbt (namentlich mit Wasser verdünnt), nicht, dringt

tief ein, ist also auch mit Vorteil für Stückfärbung anzuwenden. Nach der Färbung wird mit destilliertem Wasser gewaschen.

187. Hämatoxylinlösung I A nach Apáthy besteht aus gleichen Teilen von I. Glyzerin, II. 9 g Alaun, 3 ccm Eisessig und 0,1 g Salizylsäure auf 100 ccm Wasser. III. 1% wässerige Hämatoxylinlösung, welche 6—8 Wochen lang gestanden (gereift) hat. Statt III. nimmt P. Mayer (**01**) eine 1% Hämateinlösung. Hämatoxylin I A kann für Schnitt- und Stückfärbungen gebraucht werden. Nach dem Färben wird sorgfältigst mit destilliertem Wasser gewaschen und dann mit Spiritus behandelt.

188. Böhmersches Alaunhämatoxylin. Die Zubereitung ist nach Böhmer (65) und Frey (68) folgende: 0,35 Teile Hämatoxylin werden in 10 Teilen absoluten Alkohols gelöst. Eine zweite Lösung besteht aus

0,1 Alaun und
30 destillierten Wassers.

Man bringt einige Tropfen der ersteren Lösung in letztere, bis sich ein schönes Violett entwickelt.

Ebenso kommt man zum Ziel auf folgende Weise: Man fertige sich an: eine 1 bis 2%ige Alaunlösung in Wasser und eine gesättigte Hämatoxylinlösung in absolutem Alkohol, lasse letztere tropfenweise in erstere einfließen, bis eine violette Lösung entsteht. (Die zuzusetzenden Mengen sind, je nach dem Hämatoxylinpräparat, verschieden.)

Diese Lösung wird beim Stehen dunkelblau; sie muß ausreifen, d. h., sie kann erst nach etwa 14tägigem Stehen (in offenem, vor Staub geschütztem Gefäß) verwendet und muß vor dem Gebrauch filtriert werden. Ist die für die Zubereitung verwandte alkoholische Hämatoxylinlösung alt (einige Monate) und rostbraun geworden, so ist das Ausreifen überflüssig (Apáthy, 96).

Das Böhmersche Hämatoxylin wird zur Schnittfärbung benützt. Es eignen sich hierfür am besten mit Salpetersäure, Pikrinsäure oder Sublimat fixierten Stücken entnommene Schnitte, weniger gut solche von Chromsäurepräparaten und solche, welche mit Osmiumsäure oder einem Osmiumsäure enthaltenden Gemisch behandelt wurden. Solche Schnitte können aufgeklebt oder nicht aufgeklebt gefärbt werden.

Mit Böhmerschem Hämatoxylin (gut ausgereifte Lösung) kann man entweder kurz, etwa 5 Minuten färben und dann 10 Minuten in Wasser auswaschen (beläßt man die Schnitte längere Zeit, etwa 1—2 Stunden, im Wasser, so wird die Färbung eine distinktere), oder man färbt längere Zeit. Die Zeit muß dann ausprobiert werden, d. h. man muß bisweilen einen Schnitt herausfangen und in Wasser bringen, um zu

sehen, ob er die richtige Farbe hat. Der Schnitt soll hellblau, nicht aber zu dunkel werden. Danach ist etwa 10 Minuten auszuwaschen und in der angegebenen Weise weiter zu behandeln. Es besteht bei diesem Verfahren die Möglichkeit, daß die Schnitte überfärbt werden; man verfahre dann nach § 189.

189. Mit Hämatoxylin (rasch geschieht dies z. B. bei dem Böhmerschen) ist es möglich, zu stark zu färben, zu überfärben. Ist dies geschehen, so sind die Schnitte dunkelblau geworden. Hier hilft ein Auswaschen in Wasser, auch wenn man es lange fortsetzt, nichts. Wohl aber können die Schnitte noch gut werden, wenn man solch aufgeklebte oder nicht aufgeklebte Schnitte in Wasser bringt, welchem etwas Säure zugesetzt ist, z. B. ein Tropfen Salzsäure auf 30 ccm Wasser. Hier bleiben die Schnitte, bis sie violett geworden sind (einen roten Schimmer bekommen). Dann kommen sie in Leitungswasser und werden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt.

Ähnliche Dienste leisten auch andere Säuren, z. B. Schwefel- oder Oxalsäure. Für Oxalsäure hat man sich als Regel zu merken, daß hier nur mit destilliertem Wasser gearbeitet werden darf, um Kristallbildung zu vermeiden.

Eine entgegengesetzte Korrektion von z. B. durch zu langes Verweilen in der Säure rot gewordenen Schnitten kann man hervorrufen, indem man dieselben sehr lange in fließendes Leitungswasser bringt, oder rasch, indem man dem Wasser Spuren Salmiakgeist zusetzt, z. B. einen Tropfen auf 100 ccm. Die Schnitte werden dann wieder blau.

Was ist nun das Resultat einer gut gelungenen Hämatoxylinfärbung? Intensiv blau gefärbt ist das Chromatin der Kerne, leicht bläulich in verschiedenen Abstufungen die verschiedenen Bestandteile der Zellen, ziemlich stark färbt sich die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels usw.

190. Delafieldsches Hämatoxylin (siehe Prudden, 85). Um 600 ccm Flüssigkeit zu erlangen, löse man 4 g des kristallisierten Hämatoxylins in 25 ccm absoluten Alkohols. Diese Lösung gieße man in 400 ccm einer konzentrierten wässerigen Ammoniak-Alaunlösung. Nach 3 bis 4 Tagen, während welcher die Flüssigkeit offen in einer Flasche im Lichte stehen gelassen wird, filtriert man und gießt je 100 ccm Glyzerin und Methyl-Alkohol hinzu. Nach ein paar Tagen filtriere man abermals; es wird diese Flüssigkeit vor dem Gebrauche gewöhnlich mit Wasser verdünnt.

Färbung wie beim Böhmerschen Hämatoxylin, mit Wasser auszuwaschen. Schnittfärbung.

191. Friedländersches (82) Hämatoxylin besteht aus:

Hämatoxylin	2,0
Alkohol	100,0
Aqua dest.	100,0
Glyzerin	100,0
Kalialaun	2,0.

Eventuell kann der Lösung 10 ccm Eisessig zugesetzt werden, um Überfärbung zu vermeiden (Ehrlichsches Hämatoxylin). Färbung: Ein in diese braune Lösung eingelegter Schnitt wird in kurzer Zeit ebenfalls braun gefärbt; der Schnitt wird in destilliertem Wasser ausgewaschen und verändert binnen wenigen Minuten seine Färbung in blau. Stückfärbung gleichfalls möglich.

192. Kleinenbergsches (76) Hämatoxylin (alkoholisch). 1. Man bereitet eine gesättigte Lösung von kristallisiertem Chlorkalzium in 70%igem Alkohol und fügt soviel Alaun, als sich lösen will, hinzu. 2. Eine gesättigte Lösung von Alaun in 70%igem Alkohol wird mit der ersteren im Verhältnis von 8 : 1 gemischt. 3. In diese Mischung bringt man tropfenweise Hämatoxylin in konzentrierter alkoholischer Lösung bis zur Blaufärbung des Ganzen. — Die Herstellung der Farbe erfordert infolge der unbestimmten Angaben persönliche Erfahrung. Die exakt färbende Flüssigkeit ist aber von Wert für Präparate, welche nicht mit wässerigen Flüssigkeiten in Berührung kommen dürfen.

193. Ein Hämatoxylin, bei welchem das lästige ›Reifen‹ wegfällt, stellt Hansen (95) durch Oxydation der Hämatoxylin-Alaunlösung in der Wärme auf folgende Weise dar: a) 1 g Hämatoxylin wird in 10 g Alkohol abs. gelöst. b) 20 g Kalialaun werden in 200 g Aqua dest. warm gelöst, nach der Abkühlung wird filtriert. Am folgenden Tage Mischung von a) und b). 3 ccm von einer bei 15° C konzentrierten wässerigen Kaliumpermanganatlösung mißt man in eine Porzellanschale, gießt dann die Hämatoxylinalaunmischung zu und erwärmt unter stetem Umrühren bis zum Sieden. Man läßt $^1/_2$ bis 1 Minute sieden, kühlt rasch ab und filtriert.

Wasserstoffhyperoxyd wird analog wie Kaliumhypermanganat für Reifen von Hämatoxylin angewandt (Unna).

P. Mayer (04) fügt Natriumjodat, um Hämatoxylin reif zu machen, hinzu. 0,2 Natriumjodat auf 1 l, mit 1 g Hämatoxylin und 50 g Alaun. Vgl. auch Apáty § 188.

194. Glychämalaun von P. Mayer (96), sehr lange haltbar. Hämateïn 0,4 g, Alaun 5 g, Glyzerin 30 ccm, dest. Wasser 70 ccm. Man löse unter Zerreiben im Mörser das Hämateïn in ein wenig Glyzerin und setze dann den Rest des Glyzerins nebst der (warm oder kalt bereiteten) Alaunlösung hinzu. Da leicht etwas Alaun ausfällt, so filtriere man die Lösung erst nach einigen Tagen.

195. Mallorys Hämatoxylin (60): Hämatoxylin 0,1, Wasser 80, Phosphorwolframsäure (Merk) einer 10%igen wässerigen Lösung 1 ccm, Wasserstoffhyperoxyd 0,2. Man löse Hämatoxylin unter Erhitzen in etwas Wasser und setze nach einigem Abkühlen den Rest des Wassers und die Säure zu, dann Wasserstoffhyperoxyd. Es wird nach der Färbung rasch im Wasser gewaschen, dann 95% Alkohol Origanumöl, Xylol, Kanadabalsam. — Resultate: unter anderem Neurogliafasern blau, Nervenfasern rosa, Bindegewebe tiefrosarot.

Ein älteres Mallorysches Hämatoxylin (91) hat folgende Zusammensetzung: Hämatoxylin 1 g, Phosphormolybdänsäure 10%ig 1 ccm, Wasser 100, Chloralhydrat 5—10 g. Die Lösung muß reifen, event. mehr Hämatoxylin erhalten.

196. Vanadium-Hämatoxylin nach M. Heidenhain. Es werden 60 ccm einer 0,5%igen Lösung von Haematox. purissim. mit 30 ccm einer 0,25%igen Lösung von Ammonium vanadinicum zusammengegossen (bei Zimmertemperatur! cave: Erhitzen). Es entsteht eine schöne blaue Lösung, welche etwa am 3.—4. Tage brauchbar wird, aber schon nach 8—10 Tagen ihre guten Eigenschaften gänzlich eingebüßt hat. Man kann mit Vorteil nur feine Schnitte von in Sublimat fixierten Stücken tingieren und sollen sich bei diesen starke Metachromasien zeigen.

Färbungsresultate: Starke Protoplasmafärbung in gewöhnlich sepiabraunem Tone (besonders schön: Schleimspeicheldrüsen), starke Färbung des Oxychromatins, schwache des Basichromatins, gewöhnlich Gelbfärbung der Nukleolen, oft Blaufärbung des Mucins und des Bindegewebes, Orangefärbung der roten Blutkörperchen, die Muskulatur meist schön goldbraun (Sarkolemm und Streifen Z wurden am Herzen bläulich erhalten).

Diese Färbung ist über Jahre hinaus konstant, dürfte aber nur von geübten Händen mit Vorteil benutzt werden. Heidenhain M. (03.)

197. Die **R. Heidenhainsche** (86) **Hämatoxylinfärbung** ist eine Stückfärbung. Anfertigung der Farbe: Eine $^1/_3$%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin wird bereitet. Dieselbe kann frisch verwendet, aber im Licht nicht lange aufbewahrt werden.

Färbung: Die in Alkohol oder gesättigter Pikrinsäurelösung fixierten Objekte kommen in die Farbe für 24 Stunden, dann ebenfalls 24 Stunden in eine $^1/_2$%ige wässerige Lösung von einfach chromsaurem Kalium (Kalium

chromicum flavum). Dieses wird durch die auftretenden Farbwolken rasch gefärbt und muß daher mehrmals gewechselt werden. Dann werden die Stücke in Wasser ausgewaschen und kommen in Alkohol von steigender Konzentration. — Alk. abs., Xylol, Paraffindurchtränkung ist zulässig. Bedingung ist Anfertigung feinster Schnitte von 5 μ und weniger. Neben der Kernfärbung erhält man ausgezeichnete Protoplasmafärbung.

Am besten eignen sich für diese Färbung Präparate, welche mit Alkohol oder Pikrinsäure (siehe § 25 resp. 59) fixiert wurden. Wenn man eine $1/_2$%ige Hämatoxylinlösung und eine $1/_2$ bis 1%ige Chromkaliumlösung nur wenige Stunden einwirken läßt, beide in großen Mengen und letztere öfters wechselt, so erhält man nach Apáthy eine reine aschgraue Färbung, die auch bei dickerem Schneiden noch deutliche Bilder gewährt.

198. Für Stückfärbung von O. Schultze (04) wendet man Chromhämatoxylin in folgender Weise an: Fixiert werden die Objekte in Chromsäure oder Chromsäuresalze enthaltenden Flüssigkeiten, z. B. Chromosmiumessigsäure von Flemming, Kaliumbichromat 3%ig, mit Osmiumsäure 2%ig, im Verhältnis von 3 zu 1 gemischt, usw. Die fixierten Stücke werden nicht gewässert, sondern gleich mit 50%igem Spiritus gut gewaschen und dann in 70%igen Spiritus, welcher mit Hämatoxylin gesättigt ist, auf 12 bis 24 Stunden übertragen. Dann wendet man, wie sonst, 80%igen Spiritus etc. bis zum Einschließen in Paraffin an. Enthalten die Stücke zu wenig Chrom, und fällt die Färbung nicht intensiv genug aus, so behandelt man die Stücke vor dem Hämatoxylinalkohol mit 1%iger Bichromatlösung in 50%igem Alkohol. Bergamottöl löst den Chromlack.

Resultate: Viele Protoplasmastrukturen, Kittleisten, Nerven- und Bindegewebsfibrillen erscheinen gefärbt.

199. Hämatoxylin-Eisenalaun nach M. Heidenhain (92, 94 und 96). Mit Wasser aufgeklebte Schnitte (höchstens 5 μ), besonders von Sublimatpräparaten, kommen in eine 1,5 bis 4%ige (für Zentralkörper ausschließlich $2^1/_2$%ige) wässerige Eisenammonium-Sulfatlösung auf 2 bis 3 Stunden (für Zentralkörper nicht unter 3, besser 6 bis 8, ja bis 12 Stunden); nach sorgfältigem Abspülen in destilliertem Wasser wird in der Hämatoxylinlösung (1 g Hämatoxylin auf 10 Alkohol und 90 Wasser lasse man 4 Wochen reifen, verdünne zum Gebrauch mit dem gleichen Volumen Aqua dest.) 24 bis 36 Stunden gefärbt. (Die Güte der Zentral-

körperfärbung wächst bei längerem Gebrauch ein und derselben Farbquantität.) Ausziehen der pechschwarz gewordenen Schnitte in derselben ($2^1/_2$%igen) Eisenalaunlösung. Die Entfärbung kontrolliere man (für Zentralkörper mit Wasserimmersion) nach Abspülen des Objektträgers in einer großen Quantität Leitungswasser. Man unterbreche die Differenzierung je länger, desto häufiger. Zum Schluß 10 bis 15 Minuten in fließendem Wasser abspülen. Resultat: Färbung der Mikrosomen und der gröberen Teile der Chromatinstruktur, der Gallenkapillaren, des Schlußleistennetzes, der quergestreiften Muskulatur und der Zymogenkörnchen. Man kann auch mit Bordeaux R., Fuchsin S. oder Anilinblau vorfärben.

200. Gurwitsch beschleunigt die Prozedur, indem er aufgeklebte, entparaffinierte, mit Alkohol entwässerte und gründlich mit destilliertem Wasser gewaschene Schnitte mit 2,5%iger Eisenbeize aus einer Pipette reichlich beschickt und auf offenem Wasserbade so lange erhitzt, bis sich Blasen bilden, resp. die Beize sich trübt. Nach kurzem Abspülen mit destilliertem Wasser wird dieselbe Prozedur mit der Hämotoxylinlösung wiederholt. Wird eine sehr intensive Färbung gewünscht, so dampft man die Hämatoxylinlösung, bis sie von den Rändern aus einzudicken anfängt, oder schichtet eventuell die Farbe zum zweiten Male auf. Die Differenzierung wird bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen.

201. Nißlsche (94b) Hämatoxylinfärbung. Die sehr feinen Schnitte kommen eine halbe Stunde lang in Tinctura ferri acetici Rademacheri, worauf sie oberflächlich mit Wasser abgespült werden, um sodann wiederum eine halbe Stunde lang in die Weigertsche Hämatoxylinlösung (Hämatoxylin 1, Alkohol 10, 100 Wasser) zu kommen. Nach oberflächlichem Abspülen in Wasser werden sie kurz zur Differenzierung in 1 Salzsäure auf 100 70%igen Alkohol verbracht, um dann 10 Minuten in Wasser zu kommen, worauf nach Verbringung des Schnittes in Alkohol und Öl sein Einschluß in Balsam erfolgt.

202. Die besonderen Zwecken dienenden Hämatoxylinfärbungen von Weigert, Pal, Kultschitzky siehe § 491 ff., 494, 497 f., von Benda § 633.

Teerfarben (Anilinfarben).

203. Bei der Färbung kann im allgemeinen mit Vorteil in zweierlei Weise vorgegangen werden: Entweder beläßt man die Schnitte nur so lange in der Farbe, bis das zu Färbende genügend gefärbt ist, progressive

Färbungsmethode, oder aber man überfärbt den Schnitt (bis sämtliche Elemente desselben gleichmäßig gefärbt erscheinen) und wäscht dann mit dazu geeigneter Flüssigkeit so lange aus, bis alle Teile des Schnittes den Farbstoff abgegeben haben, bis auf diejenigen, welche die Farbe am längsten festhalten, regressive Färbungsmethode. (Vgl. auch § 171 ff.) Mit den Teerfarben werden nach der regressiven Methode besonders exakte Färbungen (z. B. Chromatin) erzielt.

Gute, zum Teil progressive, zum Teil regressive Kernfärbungen erhält man mit Safranin, Thionin, Gentianaviolett, Methylgrün, auch Bismarckbraun. Aber auch zur Färbung anderer Zellbestandteile sind die Anilinfarben sehr nützlich, so Eosin, Orange G., Fuchsin S. usw. — Für letztere Zwecke werden sie jedoch seltener allein, sondern meist im Anschluß an eine Kernfärbung angewandt und sollen daher erst in den folgenden Kapiteln: Doppel- und Mehrfachfärbung — abgehandelt werden.

Das Färbevermögen eines großen Teils der Anilinfarben ist, abgesehen von der Zeit, fast unabhängig von der Konzentration; man mache es sich zur Regel, bei der progressiven Färbung mit dünnen Lösungen zu färben. Für die regressive Färbung wird man dagegen in den meisten Fällen mit konzentrierteren arbeiten.

204. Ehrlich (91) klassifiziert die Anilinfarbstoffe von anderen Gesichtspunkten wie die Chemiker. Er nennt saure Farbstoffe jene Verbindungen, bei denen, wie in pikrinsaurem Ammon, eine Säure das färbende Prinzip darstellt. Säurefuchsin, Orange, Nigrosin, Bordeaux, Kongorot, Benzoazurin, Eosin, Erythrosin, Lichtgrün SF., Indulin, Aurantia.

Die basischen Farbstoffe sind, wie das essigsaure Rosanilin, aus einer Farbbase und einer indifferenten Säure entstanden, gedacht. Dazu gehören: Methylenblau N., Safranin, Methylgrün, Thionin, Gentianaviolett, Fuchsin (Magenta), Bismarckbraun, Methylviolett etc.

Die neutralen schließlich denke man sich, wie das pikrinsaure Rosanilin, durch Zusammentritt einer Farbbase und einer Farbsäure entstehen.

Wir werden jedoch von der Klassifikation Ehrlichs außer im Kapitel Blut und Lymphe (siehe dort) weniger Nutzen haben, weil die basischen und sauren Farbstoffe Ehrlichs nicht genau unseren Kernfärbemitteln oder andere Bestandteile der Zelle färbenden Teerfarben entsprechen. Für unsere speziellen Zwecke kommt nämlich nicht das Färbevermögen allein, sondern auch die Resistenz der Farbe gegen

die Nachbehandlungsmittel (Auswaschen, Entwässern, Einschließen etc.) in Betracht, kurz darauf, wie der Farbstoff sich schließlich verhält, wenn man ihn die Summe der Prozeduren durchmachen läßt, welche die regressive Methode erfordert (P. Mayer, 98).

205. Die im folgenden wiedergegebenen Teerfärbungen und die im Kapitel Doppel- und Mehrfachfärbung erwähnten reichen für die gewöhnlichen Zwecke der Schnitt- und Stückfärbung aus. Teerfarben, welche speziellen Zwecken dienen (z. B. Methylenblau, Dahlia etc.) werden im speziellen Teil erwähnt.

Kernfärbung mit (basischen) Teerfarben.

206. **Safranin** ist ein wertvolles Kernfärbemittel, vor allem für Präparate, welche mit Flemmingscher Lösung behandelt sind.

Safraninlösung wird hergestellt nach Pfitzner (80):

1 Teil Safranin
100 Teile Alkohol abs.
200 Teile Aqua dest.

Man löse zunächst Safranin in Alkohol, was 24 Stunden und länger dauert, und setze nach erfolgter Lösung Wasser zu.

Schnittfärbung 24 Stunden, dann wird in Alkohol abs. ausgezogen; Alkohol abs., Xylol, Kanadabalsam. Zieht man Schnitte, welche mit Safranin stark gefärbt sind, mit reinem Alkohol oder mit schwach angesäuertem (1 $^0/_{00}$igem) Alkohol, wenn die Präparate in Osmiumsäure fixiert waren, aus, so erhält man nur bestimmte Teile des Kerns gefärbt: Chromatin (Basichromatin Heidenhain). Podwissotzki gebraucht zum Ausziehen und Fixieren der Farbe pikrinsäurehaltigen absoluten Alkohol.

207. Thionin färbt nach P. Mayer (98) progressiv (konzentrierte wässerige Lösung kurze Zeit) und regressiv vorzüglich Chromatin; in letzterem Fall nach längerer Färbung Differenzierung (Stunden) mit Alkohol für Präparate aus Sublimat und Flemmingscher Lösung.

208. **Methylgrün** ist Kernfärbemittel. Zubereitung: 1 auf 100 Aqua dest. (+ 25 Alkoh. abs.); es wird 10 Minuten gefärbt. Für 24 stündige Färbung mit 20 $^0/_0$igem Spiritus auf das Doppelte oder mehr zu verdünnen. Schnittfärbung, dann Waschen in Wasser, ausziehen in 70 $^0/_0$igem Spiritus kurze Zeit (1—2 Minuten), Alkohol abs. 1 Minute, Xylol, Kanadabalsam.

Die Hauptbedeutung des Methylgrüns im Vergleich zu Safranin liegt in seiner besseren Verwendbarkeit zu Mehrfachfärbungen mit roten Farbstoffen (z. B. Eosin, Fuchsin S., auch Orange).

Über die Verwendung des Methylgrüns als Kernfarbstoff für frische Gewebe siehe § 255.

209. Bismarckbraun nach Weigert (78). Anfertigung: 1 auf 100 Wasser wird aufgekocht und filtriert, dann wird ein Drittel des Volumens absoluter Alkohol zugesetzt. Färbung (Schnittfärbung): Die Färbezeit ist beliebig (etwa 2—24 Stunden), da Bismarckbraun nicht leicht überfärbt: dann auswaschen in Wasser; weiter in absoluten Alkohol, Xylol, Kanadabalsam, auch aus Wasser in Glyzerin. — Kernfärbung, färbt auch intensiv die Knorpelgrundsubstanz. Eignet sich nach P. Mayer auch für Stückfärbung.

210. Fuchsin (Magenta, Rubin, basischer Farbstoff), Anwendung wie Safranin.

211. Gentianaviolett, Anfertigung und Färbung wie Safranin, oder man löst viel Farbstoff in Anilinwasser und färbt nach Gram, d. h. färbt, spült mit Wasser ab, behandelt mit Jod-Jodkalium (§ 14) 2 Minuten, entfärbt in absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

Mehrfachfärbung.

212. Wendet man bestimmte Farben in Mischung oder nacheinander auf denselben Schnitt an, so findet man die bemerkenswerte Tatsache, daß sich nicht etwa alle Gewebsteile des Schnitts in der Farbe der Mischung färben, sondern die einen Gewebsteile mit der einen, andere mit der anderen Farbe.

Man benutzt dieses elektive Vermögen der Gewebe zur Färbung und spricht bei Anwendung von zwei Farben von einer Doppelfärbung, bei mehreren von Mehrfachfärbungen.

Wenn sich ein Schnitt gegen zwei Farben ganz gleich verhält, so ist dies keine Doppelfärbung in unserem Sinne. Gute Doppelfärbungen geben nur ganz bestimmte Farbenzusammenstellungen, solche haben aber auch großen Wert für histologische Untersuchung.

Beispiele von Mehrfachfärbungen: Man kann eine kernfärbende Farbe verwenden und hernach eine andere Farbe, welche dann das Chromatin nicht färbt, wohl aber den übrigen Teil des Kerns und der Zelle. Solche sog. plasmafärbende Farben sind z. B. Eosin und Orange.

Einen anderen Zweck verfolgt eine Zusammenstellung mehrerer kernfärbender Farben; sie ermöglichen, verschiedene Teile des Kerns oder verschiedene Kernarten auseinanderzukennen.

Man kann auch wieder mehrere nicht kernfärbende Farben mit einer kernfärbenden zusammenstellen und erhält so drei- und mehrfache Färbungen.

Eine Reihe von Farben wird für ganz bestimmte Gewebe angewandt. Diese werden bisweilen auch mit einer kernfärbenden Farbe verbunden.

Im nachfolgenden ist eine Auswahl der wichtigeren Mehrfachfärbungen zusammengestellt, und zwar der Reihe nach: Anwendung verschiedener Farben zugleich mit Karmin, Hämatoxylin, Safranin, Methylgrün.

Als geeignete Farbe zur Doppelfärbung mit Hämatoxylin empfiehlt sich besonders Eosin; mit diesem ist die Doppelfärbung einzuüben (siehe § 221).

213. **P. Mayers Pikromagnesiakarmin:** Zu 1 Vol. Magnesiakarmin (Karmin 1 g, Magnesia usta 0,1 g mit 20 ccm dest. Wasser 5 Min. gekocht, auf 50 ccm verdünnt, dann filtriert und mit 3 Tropfen Formol versetzt) setzt man 9 Vol. einer Lösung von pikrinsaurer Magnesia (200 ccm einer 0,5 %igen Lösung von Pikrinsäure in dest. Wasser mit 0,25 g kohlensaurer Magnesia bis zum Kochen erhitzen, absetzen lassen und filtrieren [feste Pikrinmagnesia ist von Grübler in Leipzig zu beziehen]) hinzu. Man kann auch zu 1 Vol. Magnesiakarmin 4 Vol. der erwähnten Lösung von pikrinsaurer Magnesia und 5 Vol. des schwachen Magnesiakarmins in 100 ccm Magnesiawasser (0,1 g Magnesia usta mit 100 ccm gewöhnl. Wasser eine Woche lang unter öfterem Schütteln in Kontakt stehen, dann absetzen lassen, dann abgießen) hinzusetzen. Auswaschen in dest., event. in Magnesiawasser. Färbt Schnitte rasch, kann auch zur Stückfärbung benützt werden.

214. Pikrokarmin nach van Wijhe. Eine alte ammoniakalische Lösung, oder eine künstlich gereifte, wird mit Alkohol versetzt, zu Pulver eingedampft und mit Ammoniumpikrot zu Pikrokarmin gemischt. — Die künstliche Reife des Ammoniakkarmins wird dadurch erzielt, daß man 10 g trockenes Karmin (das käufliche enthält ca. 10 % Wasser), daß man 10 ccm Ammoniak und 20 ccm Wasserstoffsuperoxyd (oder ebensoviel einer 1 %igen Kaliumpermanganatlösung) kurze Zeit kocht und mit dem vierfachen Volumen 96 %igen Alkohol versetzt; nach einer Stunde wird filtriert. Das auf dem Filter befindliche Prä-

zipitat wird mit 100 ccm 96%igem Alkohol gewaschen und schließlich im Thermostat bei 40—45° getrocknet. 0,5 g dieses Ammoniakkarminpulvers wird zu 100 ccm einer 1%igen Ammoniumpikratlösung (das Salz darf keine freie Pikrinsäure enthalten!) zugesetzt, 1/4 Stunde auf dem Wasserbad gekocht, nach dem Erkalten filtriert. Die Lösung ist neutral. Die gefärbten Schnitte werden kurze Zeit mit Wasser gewaschen, mit Alkohol bis zur gewünschten Differenzierung behandelt und durch Toluol in Kanadabalsam übergeführt.

215. Weigertsches (81) Pikrokarmin. 2 g Karmin werden mit 4 ccm Ammoniak übergossen und bleiben 24 Stunden, geschützt vor Verdunstung, stehen; es werden dann 200 g wässerige konzentrierte Pikrinsäure zugesetzt und wiederum 24 Stunden stehen gelassen. Es werden nun ganz kleine Mengen Essigsäure hinzugesetzt, die allmählich einen starken Niederschlag verursachen, der auch beim Umrühren nicht verschwindet. Nach 24 Stunden filtriert man. Geht der feine Niederschlag durch den Filter, so setze man Spuren von Ammoniak hinzu, wodurch der Niederschlag gelöst wird. Löst Eiweiß ab.

216. Karmin-Bleu de Lyon (nach Röse). Man schicke eine Karminfärbung (Stück- oder Schnittfärbung, z. B. Alaunkarmin, Boraxkarmin) voraus. Bleu de Lyon wird in absolutem Alkohol gelöst und so stark mit absolutem Alkohol verdünnt, daß die Flüssigkeit kaum mehr blau erscheint. Darin werden die Schnitte 24 Stunden nachgefärbt. Die Färbung ist als Doppelfärbung für allgemeine Zwecke geeignet; ihre Verwendung für spezielle Zwecke siehe § 397.

Bleu de Lyon färbt viel rascher und intensiver, wenn man zu der Farbe Jodtinktur (1 Tropfen auf 30 ccm Farbe) zusetzt, oder die Schnitte vor der Färbung mit sehr verdünnter Jodtinkturlösung behandelt. Tonkoff.

217. Paul Mayer (96) machte darauf aufmerksam, daß **Indigokarmin** in folgender einfacher Weise angewandt werden kann: Er setzt von einer Lösung von 0,1 g Indigokarmin in 50 ccm dest. Wasser (oder 5%iger Alaunlösung) dem Hämalaun oder dem Karmalaun nach Bedürfnis 1/20—1/5 seines Volumens zu.

218. Schuberg kombiniert mit der Karmindurchfärbung der Präparate in Stücken eine Nachfärbung derselben mit einer 1/2%igen Osmiumsäure 12—24 Stunden und dann eine ebenso lange Behandlung der Stücke mit Holzessig. Letzterer wird mit gleichem oder doppeltem Volumen Wasser verdünnt.

219. Apáthy (96) empfiehlt Indigokarmin zur Nachfärbung mit Safranin an in Hermannscher Flüssigkeit fixierten Präparaten.

220. Die **Pikrinsäure** als zweite Farbe ist außer ihrer Anwendung in der Form, wie es bei den Pikrokarminen geschieht, auch zu anderen Doppelfärbungen geeignet. Man hält sich eine gesättigte wässerige Lösung vorrätig (wie für die Fixation). Diese wird für die Färbung im Verhältnis von 1 : 3 mit Wasser verdünnt. Diese Lösung kann zur Nachfärbung von mit Karmin, Hämatoxylin oder Safranin vorgefärbten Präparaten benutzt werden. Bei Schnitten genügt kurze Nachfärbung 2—5 Minuten. Dann wird in Wasser ausgewaschen, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Beim Auswaschen behalte man im Auge, daß die Pikrinsäure in fließendem Wasser rasch fast vollständig weggeht; man kann jedoch schon mit bloßem Auge den Moment erkennen, in welchem der Schnitt eben noch einen gelben Ton besitzt. — Weiter kann diese Nachfärbung mit Pikrinsäure auch im Stück geschehen; diese erfolgt, je nach der Größe des Objekts, in 2—24 Stunden. Auf Präparate, welche mit Boraxkarmin im Stück gefärbt sind, wirkt die Pikrinsäure als Säure (Karmin ausziehend), es können daher solche Stücke direkt aus dem Boraxkarmin in die Pikrinsäure übertragen werden (ohne vorher in sauren Alkohol zu kommen). Wenn man Stücke zuerst in Pikrinsäure auf 24 Stunden legt und dann mit Karmin, z. B. Alaunkarmin, nachfärbt, erhält man für manche spezielle Zwecke gute Färbungen. So können sowohl in Pikrinsäure selbst fixierte Stücke behandelt werden, als auch z. B. in Sublimat oder Alkohol fixierte. Für manche Zwecke wird Pikrinsäure auch in alkoholischer Lösung angewandt.

221. Hämalaun-Eosin. Zeitlich getrennte Färbung. Für diese Doppelfärbung wird zunächst (nach § 175) ein Präparat in Hämalaun gut gefärbt und mit Wasser ausgewaschen. Dieses Präparat kommt in eine Eosinlösung. Es empfiehlt sich, eine 1%ige Eosinlösung in Wasser anzufertigen. Für die meisten Objekte genügt es, diese Lösung um das 3 bis 5fache zu verdünnen. Darin bleiben die Schnitte 3—5 Minuten. Bei stärkeren Lösungen genügt etwa 1 Minute; dann werden sie zunächst gut in Wasser ausgewaschen. Dasselbe muß so lange gewechselt werden, bis es nicht mehr rot erscheint. Nun kommen die Schnitte für 2—5 Minuten in 96%igen Alkohol, von da je 1 Minute in absoluten Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Es ist sehr

wesentlich, daß die Eosinfärbung nicht zu stark ist, da ein überfärbtes Präparat undeutlich wird.

Korrektion von mit Eosin überfärbten Präparaten ist möglich durch Ausziehen mit schwächerem Alkohol, 70% oder 80%; Zeit; Minuten, eventuell Stunden.

Eosin wurde als Tinktionsmittel von Fischer (75) vorgeschlagen.

222. Rawitz (95b) empfiehlt, zuerst mit Eosin und hernach mit Hämatoxylin zu färben. Er färbt in sehr verdünnter Eosinlösung (1—3 Tropfen der konzentrierten Eosinlösung auf 25—50 ccm destilliertes Wasser) 24 Stunden. Dann wird flüchtig (bis 10 Minuten) in destilliertem Wasser abgewaschen, in einer entsprechend verdünnten Hämalaun-, bzw. Hämatoxylinlösung, gefärbt und, wie üblich, weiter behandelt. Wir haben nach diesem Verfahren gute Resultate erhalten.

223. van Gieson'sche Färbung (cit. nach v. Kahlden 95). 1. Fixierung in Müller'scher Flüssigkeit oder in Alkohol. 2. Färben $^1/_2$ Stunde lang in Hämatoxylin. 3. Gründliches Auswaschen in Wasser. 4. Färben 3—5 Minuten lang in einer Mischung von Pikrinsäure, gesättigter, wässeriger Lösung und Säurefuchsin, gesättigte, wässerige Lösung so viel, daß die Mischung eine tiefrote Farbe erhält. 5. Abspülen in Wasser, $^1/_2$ Minute lang. 6. Spiritus, Alkohol, Hopfenöl, Kanadabalsam. Die Methode ist sehr bequem zu handhaben und gibt eine sehr schöne Doppelfärbung. Die Kerne werden braunrot, das Bindegewebe leuchtend rot. Ein weiterer Vorteil ist die gleichzeitige Färbung von Amyloid, Colloid, Hyalin und Schleim. van Gieson hat ursprünglich die Hämalaunlösung von Delafield empfohlen. Die gewöhnliche Alaunhämatoxylinlösung gibt auch sehr gute Resultate. Man überfärbt die Schnitte, weil die Pikrinsäure zum Teil eine entfärbende Wirkung ausübt.

224. Rubin-Ammoniumpikrat. Nachfärbung nach Apáthy. Vorfärbung in Hämatoxylin 1A, Abspülen mit dest. Wasser, eventuell in Leitungswasser, wenn die Tinktion dunkler werden soll. Dann färben in: Konzentrierte Ammoniumpikratlösung in 1%iger Lösung von Natrium salicylium 100 Teile, dazu 2 Teile einer 10%igen Rubinlösung. Die Färbung dauert wenige Minuten, darauf wird in dest. Wasser mit Zusatz von etwas Ammoniumpikrat abgespült, mit 90%igem Alkohol ganz flüchtig entwässert und durch Chloroformalkohol und reines Chloroform möglichst rasch in Chloroform-Kanadabalsam eingeschlossen.

225. Weigert (04) empfiehlt folgende Hämatoxylin-Säurefuchsin-Pikrinsäure-Färbung. Für die Hämatoxylinfärbung bereitet man: a) Hämatoxylinalkohol, 1 g auf 100 ccm 96%igen Spiritus, b) Eisenchloridlösung mit Salzsäure, d. h. 4 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. IV, 1 ccm der offizinellen Salzsäure (sp. G. 1,124 mit 25%igem Chlorwasserstoff). Zum Gebrauche gießt man a und b zu gleichen Raumteilen zusammen. Dieses neue Weigertsche Hämatoxylin überfärbt nicht (färbt mitunter auch elastische Fasern und die Scheiden der Knochenkörperchen und Primitivröhrchen). Nachdem die Schnitte gefärbt wurden, werden sie mit Wasser abgespült und kommen in ein Gemisch von 10 Teilen einer 1%igen Säurefuchsinlösung und 100 Teilen einer konzentrierten Pikrinsäurelösung in Wasser auf kurze Zeit; sie werden dann mit Wasser kurz gewaschen, mit 90%igem Alkohol entwässert und durch Karbolxylol in Kanadabalsam eingeschlossen. Dabei wird die Neuroglia nicht, wie es beim van Giesonschen Verfahren der Fall ist, gefärbt.

Das eben erwähnte neue Weigertsche Hämotoxylin wird auch bei der Markscheidenfärbung angewendet.

226. Hämatoxylin-Orange G. Es kann nach der Kernfärbung mit Hämatoxylin (z. B. nach Böhmer) mit Orange G. in ähnlicher Weise und mit ähnlichen Resultaten wie mit Eosin nachgefärbt werden; doch empfiehlt es sich hier, mit stärkeren Lösungen, etwa 1%ig, ungefähr 24 Stunden oder auch kürzere Zeit zu färben, in 96%igem Alkohol zu extrahieren, absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

227. Hämatoxylin-Kongorot siehe § 547.

228. Hämatoxylin-Safranin (C. Rabl, 85). Man färbe die mit Chromameisensäure oder Platinchloridlösung (siehe § 63) fixierten Schnitte mit Delafieldschem Hämatoxylin nur wenig intensiv, wasche sie mit Wasser event. in schwach angesäuertem Alkohol und färbe mit Safranin (filtrierte gesättigte alkoholische Safraninlösung 1 Volumen + 2 Volumina Wasser) 12—24 Stunden (2—4 Stunden genügen in der Regel); darauf werden die Objekte mit absolutem Alkohol so lange behandelt, bis sie keine roten Wolken mehr abgeben.

229. Hämatoxylin-(R. Heidenhain-)Karmin. Nach der R. Heidenhainschen Stückfärbung (s. § 197) kann man noch eine gute Kerntinktion erzielen, wenn man beispielsweise wieder im Stück mit Grenacherschem Alaunkarmin färbt oder die Schnitte mit Böhmerschem Hämatoxylin nachfärbt.

230. Hämatoxylin-Doppelfärbung, Apáthy (89) empfiehlt folgende Färbung (besonders für Nervensystem von Hirudineen), welche zu recht instruktiven Bildern führen kann: Kleine Objekte werden in $^1/_2$%ige wässerige Hämatoxylinlösung auf $^1/_2$ Stunde gelegt, kurz mit Wasser gewaschen, dann mit 1%iger Kalium bichromicum-Lösung in Wasser 2 Stunden lang behandelt, wieder gewaschen, geschnitten. Die Schnitte werden mit schwachem wässerigem Alaun-Hämatoxylin in üblicher Weise nachgefärbt (Apáthy rät zu Zelloidindurchtränkung).

231. Methylgrün-Eosin in Mischung.
1%ige wässerige Methylgrünlösung, davon 60 Teile.
1%ige wässerige Eosinlösung, davon 1 Teil.
Durch Alk. abs. auf 100 Teile zu ergänzen.
10 Minuten färben, in Wasser 5 Minuten auswaschen.
Alk. abs. 1 Minute, Xylol, Kanadabalsam.
Bei dieser und der folgenden Färbung ist Methylgrün Kernfärbemittel, die begleitende Farbe Eosin, resp. Fuchsin S., färbt andere Zellteile.

232. Methylgrün kann mit Fuchsin S. in Mischung verbunden werden, auf 1%ige wässerige Methylgrünlösung 60, 1%ige wässerige Fuchsin S.-Lösung 20; gefärbt wird wie im vorigen, aber nur kurz im Wasser ausgewaschen, da das Fuchsin S. im Wasser rasch weggeht, dann Alk. abs., Xylol, Kanadabalsam.

233. Methylgrün-Fuchsin S.-Orange. — (Biondi-Ehrlich) von R. Heidenhain (88) empfohlen und M. Heidenhain (92) modifiziert. Dieses und ähnliche Gemische, in welchen die sauren Farbstoffe (im Sinne Ehrlichs) überwiegen, werden auch Triazidgemische genannt.

Anfertigung: Es werden gesättigte wässerige Lösungen der 3 Farben angefertigt. Dieselben müssen mehrere Tage stehen und öfters geschüttelt werden. Dann werden gemischt:

100 ccm Orange,
20 » Fuchsin S.,
50 » Methylgrün.

Es empfiehlt sich weniger, die Farbmischung als Pulver direkt von Grübler in Leipzig zu beziehen. Färbung: Zur Färbung wird 1 Teil der gesättigten Lösung mit 60—100 Teilen Wasser verdünnt. Es wird 24 Stunden gefärbt und dann in Alkohol ausgezogen. Alk. absol. Xylol-Kanadabalsam. Geeignet für Sublimatpräparate. Bietet außer den bei Methylgrün-Eosin und Fuchsin S. erwähnten Resultaten noch orange Färbung der Blutkörperchen.

Die ursprüngliche Ehrlich-Biondische Lösung ist von der gesättigten Lösung 10 ccm Orange, 1 ccm Fuchsin S., 3 ccm Methylgrün.

R. Krause (93) entnehmen wir: Die besten Resultate geben in Sublimat oder mit Sublimatgemischen fixierte Präparate. Zubereitung der Farbe: Rubin S. (löst sich 20 g in 100 ccm Wasser), Orange G. (8 g in 100 Wasser), Methylgrün (8 g in 100 Wasser). Von den gesättigten wässerigen Lösungen mischt man 4 ccm der ersten mit 7 ccm der zweiten, dann gebe man 8 ccm der dritten zu. Verfährt man so, dann entsteht kein Niederschlag, welcher sonst fast unvermeidlich ist. Zur Färbung wird 1 ccm dieser Stammlösung auf 50 oder 100 ccm Wasser verdünnt. Zeit der Färbung 24 Stunden (mit Wasser, resp. dünnem Spiritus, angeklebte Schnitte). Vor der Färbung ist es manchmal vorteilhaft, die Schnitte 1—2 Stunden in 2 ‰ Essigsäure zu belassen. (M. Heidenhain [92] setzt der Farbe tropfenweise Essigsäure 1 : 500 unter stetem Umrühren so viel zu, bis der Farbenton in ein kräftiges Karmin umschlägt.) — Ausziehen mit reinem oder etwas angesäuertem 90 %igem Alkohol.

234. Tabelle der häufiger angewandten Mehrfachfärbungen.

Karmin.

Karmin-Hämatoxylin § 396
» -Pikrinsäure § 220
» -Indigokarmin § 217
» -Indulin § 558
» -Dahlia § 306
» -Bleu de Lyon § 216
Pikrokarmin § 215
Pikromagnesiakarmin § 213.

Hämatoxylin.

Hämatoxylin-(Hämalaun)-Eosin § 221
» » -Orange § 226
» » -Pikrinsäure § 220
» » -Kongorot § 547 und § 558
» » -Safranin § 228
» » -Orzeïn § 336
» » -Muzikarmin § 553
» » -Fuchsin S.-Pikrinsäure § 223 (§ 330, 331)
» (nach R. Heidenhain)-Karmin § 229
» (nach M. Heidenhain)-Rubin § 199.

Safranin.

Safranin-Gentianaviolett § 632
» -Gentianaviolett-Orange §§ 251, 252, 253
» -Pikrinsäure § 220
» -Indigokarmin § 219.

Methylgrün.

Methylgrün-Eosin § 231
» -Fuchsin S. § 232.
» -Fuchsin S-Orange § 233

Weitere Literatur zu Kapitel 8: Gierke 84, 85, Heidenhain 03.

9. Kapitel.

Rekonstruktionsmethoden

von G. Born, Breslau.

235. Eine körperliche Anschauung der zelligen Elementarteile läßt sich meist leicht aus einem und demselben Schnitte durch sukzessives Einstellen der aufeinanderfolgenden optischen Durchschnittsebenen gewinnen; wo dies wegen der ungewöhnlichen Form oder Ausdehnung der Elementarteile Schwierigkeiten macht (Purkynesche Zellen der Kleinhirnrinde), da hilft die Kombination von Bildern, die mehreren, verschieden orientierten Schnitten entnommen sind.

Schwieriger wird das Gewinnen körperlicher (dreidimensionaler) Anschauungen mitunter schon bei den sich zunächst aus Zellen aufbauenden Organulis; — wurden doch die Endteile vieler Drüsen nach den einzelnen Schnittbildern bis vor kurzem fälschlich als »azinös« (beerenförmig) bezeichnet, während es in Wirklichkeit alveoli, — längere, aber mannigfach hin- und hergebogene und ausgebauchte Schläuche sind. In vielen solchen Fällen führt die Benützung stark aufgehellter Dickschnitte und der bei der älteren Histologenschule vielbeliebten spezifischen Mazerationsmittel (Holzessig, Salzsäure, starke Alkalien und dergl. mehr) zum Ziele; gewisse Objekte dieser Art hat man jedoch aus den Schnitten rekonstruieren müssen (körperliche Form der Schilddrüsenfollikel nach J. Streiff u. dgl.).

Es bleibt aber noch eine große Zahl von anatomischen und namentlich von embryologischen Objekten übrig, die einerseits zu klein und von zu komplizierter Form sind, als daß sich von ihnen durch Präparation und direkte Betrachtung mit der Lupe oder mit schwachen Mikroskopvergrößerungen eine ausreichende körperliche (plastische) Vor-

stellung erwerben ließe, die aber anderseits viel zu groß und wieder zu kompliziert sind, als daß aus einzelnen Schnitten oder aus Mazerationspräparaten ihre Form (namentlich auch die der Binnenräume) richtig erschlossen werden könnte. In diesen Fällen ist man gezwungen, eine Rekonstruktion solcher Gebilde aus den Bildern, die die aufeinanderfolgenden Schnitte einer Serie gewähren, auszuführen.

236. Die Rekonstruktion kann entweder eine flächenhafte (rein zeichnerische) sein, bei der die Tiefendimension nur durch Verkürzung und Schattierung in der Fläche einigermaßen dargestellt wird, oder sie ist eine körperliche — plastische. In beiden Fällen wird die Rekonstruktion wohl immer mit einer mehr oder weniger erheblichen Vergrößerung verbunden sein. Wie leicht verständlich, erscheint die zeichnerische Rekonstruktion häufig nur als ein provisorisches Hilfsmittel und muß auf leichtere Fälle beschränkt werden.

Alle Rekonstruktionsmethoden sind mühsam und zeitraubend; man vermeide sie also, wenn man mit anderen Hilfsmitteln, mit Präparation, Mazeration, Injektion, Korrosion usw. auskömmt; anderseits kann nicht genug davor gewarnt werden, sich auf die vielfach beliebte »Rekonstruktion im Kopfe« (aus den Schnittbildern) bei irgend welchen schwierigen Objekten zu verlassen. Außerdem liefern namentlich die plastischen Rekonstruktionen vergrößerte und darum leichter demonstrable Präparate.

237. Die Voraussetzung jeder Rekonstruktion ist die Herstellung einer lückenlosen Serie von parallelen Schnitten durch das Objekt, — eine Forderung, die (mit Ausnahme einiger besonderer Konstruktionen) mit allen modernen Mikrotomen leicht zu erfüllen ist. Meist wird die Serie gleichmäßig dick sein; — doch kann es sich in besonderen Fällen empfehlen, zwischen dickere Schnitte in bestimmten Abständen einen halb so dünnen einzuschalten. Unter allen Umständen muß die Schnittdicke bestimmt und bekannt sein; man wähle je nach der Größe und Schneidbarkeit des Objekts Schnittdicken von 6, 8, 10, 12, 15, 20 μ. Die Schnittrichtung ist zwar theoretisch beliebig, in praxi aber ist meist eine zu der Hauptachse des Objekts parallele oder senkrechte Richtung zu bevorzugen.

Stückfärbung ist der Schnittfärbung durchaus vorzuziehen; ebenso Paraffin- der Zelloidineinbettung. Unter

allen Umständen müssen die Schnitte in richtiger Aufeinanderfolge ganz glatt — ohne irgendwelche Verschiebung (auch von ringsum isolierten Teilen!), ohne Verzerrung und Faltenbildung auf den Objektträger aufgelegt und aufgeklebt werden. Die hierfür gebräuchlichen und empfehlenswerten Verfahren siehe oben § 138 u. ff. und unten § 241.

Die Zuverlässigkeit und Schönheit jeder Rekonstruktion hängt durchaus von der Vollkommenheit der Schnittserie ab; man verschwende keine Mühe und Zeit mit Rekonstruktionsversuchen aus lückenhaften, ungleichen und schlecht aufgelegten Serien!

238. Methoden von Rekonstruktionen in der Fläche:

1. Die Herstellung eines Bildes, dessen Fläche senkrecht zur Schnittebene der Serie liegt (projektive Konstruktion nach His, das älteste und auch jetzt noch vielfach und mit Erfolg benützte Verfahren). — Beispielsweise Aufgabe: Es sei das Bild der Organe eines kleinen menschlichen Embryos im Medianschnitte nach einer gleichmäßigen Querschnittsserie von 20 μ Dicke in 60facher Vergrößerung herzustellen. — Lösung: Von dem in Zedernholzöl (oder dgl.) aufgehellten, im Stück gefärbten Embryo werden möglichst vielseitige Zeichnungen bei bestimmter (5 oder 10facher) Vergrößerung abgenommen; für unser Beispiel ist eine genaue Profilzeichnung notwendig. Die Zeichnungen sind, wo möglich, während der Embryo im flüssigen Paraffin liegt, zu wiederholen.)

Jeder Schnitt der 20 μ dicken Querschnittsserie ist bei 50facher Vergrößerung zu zeichnen, um diesen Zeichnungen die nötigen Maße direkt entnehmen zu können. Arbeitet man a) ohne Richtebene (siehe § 240), so muß die Schnittrichtung genau bekannt sein, — oder dieselbe muß durch Vergleich der Lage bestimmter Punkte in den Schnitten und im Profilbilde aufgesucht und in dieses eingetragen werden. Arbeitet man b) mit Richtebene, so ist die genaue Fixierung der Schnittrichtung entbehrlich.

Ad a). Eine Pause der auf 50mal gebrachten Profilzeichnung wird so auf »Millimeterpapier« geklebt, daß die Querlinien des Papiers der bekannten oder nachträglich bestimmten Schnittrichtung genau parallel laufen; nun numeriert man die Querlinien vom Kopfende an, entsprechend den Schnittnummern, und trägt auf jeder Linie die Abstände, die die Organe auf der 50fach vergrößerten Zeichnung des

zugehörigen Schnittes in der Medianlinie vom Umriß der Profilzeichnung und von einander zeigen, ab. Die Verbindung der entsprechenden Punkte gibt dann den Umriß der betreffenden Organe im Medianschnitte.

Ad. b). Die Medianlinie jedes 50 mal vergrößerten Schnittbildes wird soweit verlängert, bis sie die mitgezeichnete Richtlinie schneidet. Die Medianschnittpunkte der Richtlinien werden in der Reihenfolge der Schnitte auf einer Senkrechten des Millimeterpapiers markiert und numeriert. Die Abstände, welche die Umrißlinien und die Organe in der Medianlinie auf den 50 mal vergrößerten Zeichnungen von diesen Punkten zeigen, werden an den zugehörigen Horizontalen des Millimeterpapiers abgetragen und die entsprechenden Punkte der aufeinanderfolgenden Linien miteinander verbunden. Bei diesem Verfahren entsteht der Umriß des ganzen Embryos erst nachträglich, zugleich mit den Umrissen der Organe bei der Konstruktion des Medianschnittes.

Es ist klar, daß sich nach dieser Methode auch laterale Teile, auf die Medianebene projiziert, darstellen lassen, so daß man z. B. nicht nur den Umriß, sondern auch annähernd das abschattierte Tiefenbild der median durchschnittenen Organe herstellen kann. In gleicher Weise lassen sich auch Lateralansichten, Frontalschnitte, Frontalaufsichten usw. aus einer Querschnittsserie gewinnen.

Nach einer solchen zeichnerischen »Durcharbeitung« einer Serie in den verschiedensten Schnitten und Aufsichten ging His daran, das betreffende Objekt (oder bestimmte Organe desselben), unter stetiger Berücksichtigung der den Schnittbildern entnommenen Maße, »frei« zu modellieren — ein Verfahren, das trotz ausgezeichneter Resultate in den Händen seines Autors wegen der hohen Anforderungen, die es bei mannigfachen subjektiven Fehlerquellen an das künstlerisch-technische Geschick des Arbeiters stellt, kaum Nachahmung gefunden hat.

2. Die »graphische Isolierung« nach Kastschenko (86, 87, 88; siehe in Zeitschr. f. wiss. Mikr. 87, p. 355 auch die Vorläufer.) Vorausgesetzt ist, daß (nach Kastsch.) das Objekt im Paraffin von ihm dicht anliegenden, sich winklig schneidenden und zur Schnittebene senkrechten »Definierflächen« umgeben ist, oder daß sich neben demselben eine »Richtfläche mit Richtleisten« (siehe § 240) befindet. — Die vergrößerten Schnittbilder der »graphisch zu isolierenden Organe« werden »der Reihenfolge nach übereinander auf

Karton gezeichnet, wobei aber dafür gesorgt wird, daß sich jedesmal die Durchschnittslinien der Definierflächen, resp. die gezackten Richtlinien, genau decken. So entsteht ein richtig orientiertes System um- und nebeneinander gelagerter Umrißlinien, nach denen sich die Aufsicht auf das Organ senkrecht zur Schnittebene leicht entsprechend schattiert herstellen läßt.

239. Für plastische Rekonstruktionen wird jetzt allgemein die Plattenmodelliermethode (Born) benutzt: — Ihr Prinzip ist folgendes:

Aus jedem Schnitt einer gleichmäßigen Serie werden die Teile, die man plastisch rekonstruieren will, in einer bestimmten Vergrößerung auf Platten aufgezeichnet, die ebensovielmal dicker als die Schnitte der Serie sind, wie die Flächenvergrößerung beträgt. Die interessierenden Teile werden dann aus den Platten herausgeschnitten und die Ausschnitte der Reihenfolge nach aufeinandergeklebt. Geschieht dies in der richtigen Weise — ohne seitliche Verschiebungen —, so muß, nachdem die Stufen zwischen den Rändern der Platten geglättet sind, ein in allen drei Dimensionen richtig vergrößertes plastisches Abbild des durch die Schnittserie zerlegten Objekts herauskommen.

Nehmen wir zur Erläuterung ein ähnliches Beispiel wie oben: — Aus der gleichmäßig 20 μ dicken Querschnittserie durch einen kleinen menschlichen Embryo sei der Darmkanal 50 mal vergrößert plastisch zu rekonstruieren. — Man hat dazu die Durchschnittsfigur des Darmkanals aus jedem Schnitte in 50facher Vergrößerung auf 50×20 μ, d. h., 1 mm dicke Platten, aufzuzeichnen. Die richtig übereinander geklebten Ausschnitte der Durchschnittszeichnungen des Darmes aus diesen Platten ergeben die 50mal vergrößerte, plastische Rekonstruktion des Organs.

In betreff der Einzelheiten des Verfahrens sei hier noch folgendes bemerkt — für Genaueres muß auf die angeführte Literatur verwiesen werden:

240. Richtfläche mit Richtleisten. Wenn man nicht nach einer fertigen Serie modellieren muß, versäume man nicht, an dem Paraffinblock dicht neben dem Objekt eine zur Schnittebene senkrechte Richtebene mit ebenso senkrechten Richtleisten anzubringen; auf den Schnitten resultiert daraus eine neben jedem Schnitte liegende, gezackte Richtlinie (über Zweck und Bedeutung derselben siehe unten § 244). Das neue, hier wiedergegebene

Verfahren von Born und Peter (98, 99), das jetzt schon vielfach erprobt ist, schließt sich direkt an die gewöhnliche Art, nach der man Paraffinblöcke gießt, an. Über andere, ältere, in einzelnen Fällen sogar unentbehrliche Verfahren zur Herstellung von Richtlinien siehe die angeführte Literatur.

Man stellt sich eine rechteckige Kammer her, indem man zwei rechte Winkel (Neapler Rähmchen) auf einer plangeschliffenen, mit drei Füßchen versehenen Grundplatte so zusammenfügt, daß ihre unteren Ränder genau mit den (2 cm langen) Seiten eines auf der Grundplatte eingeritzten Quadrates zusammenfallen. Dieses quadratische Feld der Grundplatte, das den Boden der Kammer bildet, trägt in einem mittleren Streifen ein System von untereinander und zu zwei Seiten des Quadrates parallelen, dicht nebeneinander liegenden Ritzen. Am vorteilhaftesten ist es, Grundplatte und Winkel aus Glas herzustellen (in vorzüglicher Ausführung [aber nicht billig] von Zeiß-Jena zu beziehen); aus Metall kann dieselben leicht jeder Mechanikus anfertigen (event. Kleinert, Breslau, Breitestraße). In diese rechteckige Kammer, deren Grundplatte und Seitenwände vorher sehr sorgfältig mit Alkohol und dann mit Chloroform geputzt wurden (event. zuletzt noch mit einem minimalen Tröpfchen eines Gemisches von gleichviel konz. Glyz. und Alk. abs. abgerieben), und die im ganzen auf einige 50° C erwärmt war, wird auf etwa 70° C erhitztes Paraffin eingegossen, — das imbibierte Objekt eingebracht und (für eine Querschnittserie) mit seiner Längsachse senkrecht zu der dem Arbeiter zugewandten Seitenfläche (der Fußfläche) orientiert. Bei gläserner Grundplatte benutzt man dazu bei durchfallendem Lichte sichtbare, sich senkrecht überkreuzende, geschwärzte Linien, die auf der Unterseite des quadratischen Feldes eingraviert sind. Die Kammer wird außen mit Eiswasser umgeben, und das Erstarren durch Zutropfen heißen Paraffins so geregelt, daß sich keine Seite des Blockes einzieht. Nach längerem Liegen in Eiswasser lösen sich Winkel und Grundplatte glatt ab; — man erhält einen rechteckigen (parallelepipedischen) Paraffinblock. Die Fußfläche desselben wird auf die mit definitiv festgestelltem Quermesser auf dem Paraffintische des Mikrotoms angeschnittene Fläche aufgestellt und mit überhitztem Paraffin an dieser festgeschmolzen; dann stehen die Längsachse des Objekts, die von der Grundplatte

abgelöste, mit parallelen Leisten versehene Fläche des Blockes (die Richtfläche), sowie diese Leisten selbst (die Richtleisten) senkrecht zur Schnittebene. Die Leistenfläche erhält einen dünnen Anstrich von schwarzem Alkohollack; nur wenn nachgefärbt werden soll — was besser zu vermeiden ist —, benutzt man dazu mit Ruß geschwärztes, dünnes Kollodium. Nach vollständiger Trocknung des Lacküberzuges schneidet man um das Objekt und von der Leistenfläche alles, was nicht notwendig ist, vorsichtig ab; der Rest wird auf einen Augenblick in Paraffin von 75° C getaucht und nach dem Erkalten dieses Eintauchen so oft wiederholt, bis die Leistenfläche (Richtfläche mit Richtleisten) einen etwa einen Millimeter dicken Paraffinüberzug trägt.

Wenn nun das Quermesser beim Schneiden der Serie nicht mehr verrückt wird, wird das Objekt in Schnitte zerlegt, die senkrecht zur Längsachse desselben stehen und welche gleichzeitig die geschwärzte Richtfläche mit den Richtleisten senkrecht treffen. Dicht neben jedem Schnitte liegt dann eine feine, gezackte, schwarze »Richtlinie« (mit vom Schnitte abgewendeten Zacken!). — Würde man sämtliche Schnitte der Reihenfolge nach so aufeinander legen können, daß alle gezackten Richtlinien sich wieder zu einer senkrechten Richtfläche mit senkrechten Richtleisten zusammenfügten, so würden auch alle Organdurchschnitte richtig, d. h., ohne seitliche Verschiebung, aufeinanderfallen. — In der hier angedeuteten Weise — nur daß nicht die Schnitte, sondern deren vergrößerte Bilder aufeinandergelegt werden — werden die Richtlinien bei Flächenrekonstruktionen (§ 238), sowie bei der Plattenmodelliermethode, benutzt.

241. Die Schnittserie. Man lege die mit warmem Wasser (bis 40° C) gestreckten Schnitte reihenweise auf den Objektträger auf und überstreiche nach dem Lufttrockenwerden dünn, aber vollständig mittels eines weichen, gut abgestrichenen Pinsels mit Kollodium-Rizinusöl nach Strasser (10 Vol. Kollod., 10 Vol. Äther, 15 Vol. Olei Ricini). — Nun läßt man die Objektträger kurze Zeit liegen und taucht sie dann nur gerade solange in Toluol (oder dgl.), bis das Paraffin gelöst ist, darauf deckt man sogleich mit einem an der Unterseite mit einem Tropfen Balsam armierten Deckglase ein. Bei längerem Verweilen in Toluol, Xylol

oder dgl. leidet die feine Lacklinie leicht. Für die seltenen Fälle, in denen man nachfärben oder in Zelloidin einschließen will, muß auf die Literatur verwiesen werden.

242. Das Zeichnen. Man zeichne mit Benutzung des Oberhäuserschen Prismas, des Abbeschen Spiegels oder am besten unter Zuhilfenahme eines Projektionsapparates, da dieser selbst bei starken Vergrößerungen (100—150 mal), die immer zu bevorzugen sind, ein großes und ebenes Gesichtsfeld gewährt. Walzt man die Platten selbst aus, so zeichne man mit Kopierstiften (um Kopien abnehmen zu können) auf ein möglichst ungeleimtes Druckpapier; auf fertige Platten wird mit einem weichen Bleistift gezeichnet. Man mache es sich zur Regel, eher etwas zu viel, als zu wenig zu zeichnen.

243. Die Platten wurden anfänglich aus Wachs gegossen. Jetzt werden meist gewalzte, planparallele Wachspapierplatten (nach Strasser-Borns Vorschriften) benutzt. Bei diesen ist eine Wachsschicht zwischen zwei Papierblättern eingeschlossen; das eine Blatt dient zur Aufnahme der Zeichnung (möglichst ungeleimtes Druckpapier, siehe den vorigen Paragraphen), das andere Blatt ist nur eine Decklage von Florpapier. Die Papierüberzüge verleihen den Platten, und damit dem ganzen Modell, einen hohen Grad von Elastizität. Solche Wachspapierplatten liefert Dr. Grübler-Leipzig in den gebräuchlichsten Dicken. Da man aber von jeder Platte nur einen kleinen Ausschnitt braucht, kommt die Benutzung der käuflichen Platten ziemlich teuer zu stehen; es ist daher dringend anzuraten, die Wachspapierplatten nach den bei Born (88) gegebenen Vorschriften selbst herzustellen. Andere, mitunter benutzte Materialien, wie Pappen, Bleche u. dgl., sind weniger zu empfehlen.

244. Das Ausschneiden und das Aufeinanderpassen der Ausschnitte. Zum Ausschneiden werden am besten ganz kurze, schmale und spitze Messerchen (abgeschliffene Skalpelle) benutzt. Man beginne mit den Hohlräumen und lasse zwischen allen, gar nicht oder nur schmal zusammenhängenden Teilen provisorische Verbindungsstreifen (»Brücken«) stehen, die später — wenn die vorher getrennten Teile sich beim Aufeinanderpassen vereinigt haben — entfernt werden; bleiben Modellstücke dauernd isoliert, so werden die »Brücken« zuletzt durch

Drahtstifte und dgl. ersetzt. An der »Richtlinie« bleibt ein fingerbreiter Wachsstreifen stehen, aus dem die Richtzacken herausstehen; natürlich wird dieselbe auch mit den Schnitten durch »Brücken« verbunden.

Muß man ohne »Richtlinien« modellieren, so braucht man doch keine allzugroßen Fehler zu befürchten: »Die Profilkontur, durchgehende gestreckte Gebilde, wie Chorda, Blutgefäße usw., schützen meist vor falschen seitlichen Verschiebungen bei dem Aufeinanderpassen der Ausschnitte; außerdem besitzen die Schnitte durch ein einigermaßen kompliziertes Gebilde so viele Merkmale zweiter und dritter Ordnung, die immer nur eine bestimmte Art der Aufeinanderpassung möglich oder wahrscheinlich machen, daß ein Abirren nicht leicht vorkommen kann.«

Besser und sicherer aber ist es, eine »Richtlinie« neben jedem Schnitte zu haben. Man braucht dann nur die die Richtlinien tragenden Wachsstreifen so aufeinander zu passen, daß die Richtlinien mit ihren Zacken senkrecht übereinander fallen, damit alle Ausschnitte des Objekts richtig — ohne seitliche Verschiebungen — aufeinander zu liegen kommen (siehe den Schluß von § 240).

245. Die Vollendung des Modells. Man lege zuerst etwa 5 Ausschnitte richtig übereinander und befestige dieselben provisorisch, indem man ihre breiteren Teile mit einem stark erhitzten, schmalen Modellierspatel durchsticht; dann glättet man die Stufen und verschmilzt die Ränder mit dem heißen, breiten Spatel. Darauf werden wieder 5—6 Ausschnitte aufgelegt usw. Man glaube nicht, wie dies manche tun, daß ein Modellstück mit ungeglätteten Stufen »naturwahrer« sei als ein ausgeglättetes.

Im Interesse des Einblicks in Hohlräume usf. wird man das Modell häufig nicht in einem zusammenhängenden Stücke fertigstellen, sondern dasselbe lieber nach provisorischer Vereinigung und oberflächlicher Glättung in bestimmten Ebenen wieder in getrennte Stücke zerlegen. In anderen Fällen schneidet man »Fenster« ein, setzt »Stütz- und Verbindungsdrähte« an und was dgl. mehr ist. Über die rechtzeitige Entfernung der Brücken siehe oben.

Zuletzt glättet man mit dem heißen Spatel, mit einem breiten, in Terpentin getauchten Pinsel, mit der Fingerbeere usf., so weit, wie möglich; ein glattes Modell,

an dem die zufälligen Unebenheiten entfernt sind, läßt die charakteristischen Formen viel besser erkennen, als ein rauhes.

Ein Anstrich der verschiedenen Teile mit verschiedenen Temperafarben erhöht die Deutlichkeit sehr merklich.

Literatur zu Kapitel 9.

Born G. 83 und 88, Born G. und Peter K. 98, His W. 68 und 87, Kastschenko N. 86, 87 und 88, Peter K. 99, Strasser H. 86 und 87; soweit hier nicht aufgeführt, zitiert bei Strasser 86 und Born-Peter 98; — ein letzter polemischer Aufsatz von G. Alexander in Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XV, Peter 03.

246. Tabelle der Termini technici.[1])

Ein Organ wird **fixiert, konserviert,** es braucht für die Regel nicht **gehärtet** zu werden; **Härtung** ist nur ausnahmsweise notwendig, z. B. für das Schneiden mit dem Rasiermesser. Nach der Fixierung wird das Objekt eventuell **ausgewaschen** und dann mit Alkohol **nachbehandelt,** um wasserfrei gemacht zu werden (nicht um gehärtet zu werden). Dann wird es mit Paraffin etc. **durchtränkt.** Die **Durchtränkung** gliedert sich in verschiedene Abschnitte; das Objekt muß zuerst mit Xylol etc., dann mit Mischung, dann mit reinem Paraffin durchtränkt werden. Dies geschieht, indem das Objekt aus einer dieser Flüssigkeiten in die andere übertragen wird.

Dann wird das Objekt in eine Form **eingebettet,** dabei muß es **orientiert** werden. Vor dem Schneiden am Mikrotom muß das Objekt in den Objekthalter **eingespannt** werden, nachdem es auf einem Zylinder, Holzblock etc. **befestigt, aufgeschmolzen** ist. Dann wird es eventuell mit dem Orientierungsapparat orientiert werden. Je nachdem das Objekt mit Paraffin oder Zelloidin durchtränkt war, erhält man **Paraffinschnitte, Zelloidinschnitte.** Bei der **Weiterbehandlung** des Schnittes kann derselbe zunächst **aufgeklebt** werden, dann folgt die **Paraffinbefreiung**

---

[1]) In den Lehrbüchern etc. werden die technischen Termini in verschiedenem Sinne gebraucht, z. B. muß der Ausdruck »einbetten« bei verschiedenen Autoren und oft bei ein und demselben Autor für alles Mögliche dienen. Da dies nun oft zu Mißverständnissen Anlaß gibt, so stellen wir hier einige der häufigeren Termini, deren wir uns bedienen, und die wir zum allgemeinen Gebrauch vorschlagen, zusammen.

des Schnittes mit Xylol etc., dann die **Schnittfärbung,** wenn nicht **Stückfärbung** vorausging. (Durchgefärbt muß sowohl der Schnitt, wie das Stück werden.) Nach der Färbung wird **ausgewaschen,** eventuell **ausgezogen.** Die Färbung kann **Kernfärbung** sein, es kann dann mit weiteren Farben **nachgefärbt** werden (sog. Plasmafärbung). Man spricht dann von **Mehrfachfärbung.** Mehrfachfärbung mit nur zwei Farben nennt man **Doppelfärbung.** Endlich erfolgt der **Einschluſs** in Kanadabalsam; der Einschluß kann auch so geschehen, daß man erst in Glyzerin **einlegt** und dann **umrandet.**

Spezieller Teil.

1. Kapitel.

Zelle.

247. Die Zelle im ganzen ist von Gewebe zu Gewebe verschieden. Es ist aber möglich, in den verschiedensten Zellen durch die gleichen Methoden ähnliche Dinge zur Anschauung zu bringen: z. B. Chromatin des Kernes, gewisse Strukturverhältnisse des Protoplasmas usw.

248. Um das Vorkommen der Mitosen zu studieren, fixiere man die Stücke mit Sublimat, § 51, Pikrinsäure, § 59, Salpetersäure, § 58, und wende entweder Stückfärbung mit Hämatoxylin, § 197, oder Karmin, §§ 177 ff., 182, oder Schnittfärbung mit Hämatoxylin, §§ 186, 190, Karmin, §§ 177, 182, Safranin, § 206, an. Als Untersuchungsobjekte wähle man wegen der bedeutenden Größe der Elemente von den Wirbeltieren Amphibien, namentlich Quappen von Fröschen, Kröten, Tritonen. Noch günstiger, aber nicht so leicht zu bekommen, sind Embryonen von Salamandra mac. und atra. Man studiere Mitosen auch an Pflanzenzellen, z. B. in den Spitzen junger Wurzeln der Zwiebel. (Einsetzen in ein Hyazinthenglas.) Behandlung wie tierische Gewebe.

249. Hammer (91) sagt, daß die Mitosen beim Menschen nach dem Tode nicht ablaufen, sondern durch Chromatolyse zugrunde gehen, und daß sich die achromatische Spindel lange erhält.

250. Die Methoden, die für die genauere Untersuchung der Mitosen am meisten geleistet haben, sind, auf lebensfrische Objekte angewandt: a) Fixierung mit Flemmingscher Lösung, § 42, mit nachfolgender Schnittfärbung mit Safranin, § 206 (Flemming); — b) die Rablsche Fixierung mit $^1/_{10}$—$^1/_8$ %iger Platinchloridlösung, Auswaschen mit Wasser,

Übertragen in Alkohol von allmählich steigender Konzentration, Färben mit Delafieldschem Hämatoxylin, § 190, Untersuchen in Methylalkohol (auch Wasser); — c) die Hermannsche Fixierung mit modif. Flemmingscher Lösung (§ 47) einige Tage bis eine Woche lang, Waschen mit fließendem Wasser, Übertragen in Alk. abs. auf einen Tag; aus dem Alkohol kommen die Stücke in rohen Holzessig auf 12—24 Stunden, dann wird wieder 24 Stunden gewaschen und in Alkohol übertragen. Färbung der Schnitte mit Safranin, § 206, resp. mit Safranin-Gram, § 632, ist zulässig, nicht aber absolut notwendig, da man auch ohne Färbung vieles sieht. — Die Methoden b) und c) zeigen auch deutlich einige Protoplasmastrukturen und c) mitunter besonders deutlich das Centrosoma. — d) Sublimat-Eisessig, siehe § 55 und andere, s. weiter unten.

Viele von den im Kapitel »Embryologische Technik« für Fixierung und Färbung von Eiern gegebene Vorschriften erweisen sich auch für die Zelle im allgemeinen als nützlich.

251. Um das Centrosoma, Spindelfäden, Lininfäden und Polstrahlen zu färben, empfiehlt Flemming folgende Methode: Fixierung etc. nach § 42: Schnitte oder dünne Lamellen werden in Safranin, § 206, 2—3 Tage gefärbt; kurzes Waschen in dest. Wasser, Übertragen in schwach mit HCl angesäuerten abs. Alkohol ($^1/_{1000}$), bis sich wenig Farbe mehr löst; kurzes Waschen mit dest. Wasser. Es werden die Schnitte nun 1—3 Stunden in eine sehr dunkle wässerige Gentianaviolettlösung übertragen, kurz mit dest. Wasser gewaschen und dann in eine konzentrierte wässerige Orangelösung (Orange G) gebracht, bis (wenige Minuten) die Schnitte anfangen, violett zu werden. Es wird kurz mit abs. Alkohol gewaschen, in Nelken- oder Bergamottöl übertragen und in Kanadabalsam eingeschlossen. Auf das Abpassen der Zeit, wo Zentralkörper und Spindeln gerade noch Farbe enthalten, kommt es an. Resultate: Chromatin purpurrot, achromatische Spindelfasern graubraun, grau oder auch violettgrau, Zentralkörper ebenso oder rötlich.

Reinke modifizierte diese Methode in folgender Weise: Zu einer konzentrierten wässerigen Lösung von Gentiana setzt man einige Tropfen einer ebensolchen Lösung von Orange G. Es bildet sich ein neutraler Farbstoff (neutrales Gentiana, Reinke), der die Lösung trübt. Man verdünnt mit Wasser, wodurch die Lösung wieder so gut wie klar wird.

In die verdünnte, unfiltrierte Lösung bringt man die Objekte auf 24 Stunden hinein, spült sie dann mit Wasser ab, taucht sie kurz in absoluten Alkohol ein und überträgt für kurze Zeit in Nelkenöl. Das Resultat ist dasselbe wie bei der Flemmingschen Dreifachbehandlung.

252. An Eiern von Ascaris megalocephala, die nur 2 oder 4 Chromosomen besitzen, treten chromatische und achromatische Bestandteile der Zelle viel elementarer hervor. Schneidet man die Uterusschläuche heraus und bringt sie auf einer flachen Schale in eine feuchte Kammer bei 25° C, so entwickeln sich die Eier weiter und man kann bald Furchungsstadien verschaffen. Die Schläuche dürfen dabei in keiner Weise mit Wasser direkt in Berührung kommen. (Van Beneden und Neyt).

253. Für die Darstellung der Centrosomen verweisen wir ferner auf die Hämatoxylin-Eisenalaun-Methode M. Heidenhains, siehe § 199.

Als günstigstes Objekt, um die Centrosomen ungefärbt zu sehen, nennt Solger (89b) die Pigmentzellen (in der Kopfhaut der Frontal- und Ethmoidalregion des Hechtes). Flemmingsche Lösung oder Sublimat. Der Hecht wird vor der Tötung $^1/_2$ Stunde im Dunkel gehalten, damit die Pigmentkörnchen sich gleichmäßig in der Pigmentzelle verteilen.

254. Zur Darstellung der Mitochondria wendet ihr Entdecker C. Benda folgendes Verfahren an:

„A. Härtung.

1. Die lebensfrischen kleinsten Gewebsstücke kommen für 8 Tage in ziemlich reichliche Flemmingsche Lösung.

2. Nach flüchtiger Wässerung (ca. 1 Stunde) auf 24 Stunden in Acetum pyrolignosum rectificat. + Sol. acid. chromic. (1:100) āā.

3. Auf 24 Stunden in Sol. kalii bichromic. 2:100,0.

4. Ca. 24 Stunden in mehrfach erneutes Wasser, dann Alkohol in steigender Konzentration, Paraffindurchtränkung.

NB. Die Stücke sind nach dieser Behandlung makroskopisch goldbraun, ohne intensivere Osmiumschwärzung. Es empfiehlt sich, die Durchtränkung mit Paraffin gleich der Härtung anzuschließen, da sich bei längerem Verweilen in Alkohol das Material wieder etwas ändert.

B. Färbung.

1. Die (von mir stets auf dem Deckgläschen) aufgeklebten, etwa 5 μ dicken Schnitte werden vom Paraffin befreit, mit Alkohol, Wasser behandelt und kommen auf 24 Stunden in ca. 4%ige Lösung von Eisenalaun.

2. Nach Abspülen in Wasser kommen die Deckgläschen in eine bernsteingelbe wässerige Lösung von sulfalizarinsaurem Natron (Kahlbaum), welche ich durch Einträufeln einer gesättigten alkoholischen Lösung in Wasser herstelle. Sie verbleiben hierin 24 Stunden.

NB. Die Schnitte müssen frei von der Farbe bespült sein; ich lege deshalb die Deckgläschen in eine flache Schale nebeneinander, mit der beklebten Seite nach oben.

3. Nach Abtrocknen mit Fließpapier kommt jedes Deckgläschen in ein Uhrschälchen mit meiner haltbaren Kristallviolettlösung (käuflich bei Grübler) und Wasser zu gleichen Teilen.

NB. Die Kristallviolettlösung besteht aus 1 Vol. kalt in 70%igem Alkohol gesättigter Kristallviolettlösung, 1 Vol. Salzsäurealkohol, 2 Vol. Anilinwasser.

4. Die Lösung wird erwärmt, bis Dämpfe aufsteigen, dann 5 Min. abkühlen.

5. Abtrocknen auf Fließpapier, dann 1 Min. in 30%iger Essigsäure.

6. Abtrocknen mit Fließpapier, Eintauchen in Alkohol absol., bis keine größere Farbstoffwolke abgeht, Xylol, Balsam.

NB. Wenn man guten absoluten Alkohol verwendet, kann man die Deckgläschen (nach G. Fritsch) auch direkt auf Balsam auflegen.

Der schwierigste Moment ist die Abspülung in Alkohol. Wenn man zu lange hierin verweilt, werden die Fadenkörner ausgewaschen und man muß alsdann die Färbung von 3. an wiederholen. Ist man zu hastig gewesen, so daß anderes mitgefärbt blieb, so kann man nach Entfernung des Balsams durch Xylol noch ganz vorsichtig mit Kreosot nachdifferenzieren, wobei man am besten das Kreosot mit Xylol versetzt, um den Waschungsprozeß zu verlangsamen.

In den so gefärbten Präparaten sind die Kerne und das fädige Cytoplasma braunrot, ebenso das Archiplasma (Idiozoma); die Zentralkörperchen haben eine rötlichviolette Farbe. Einige Sekretgranula, z. B. die eosinophilen

Leukozytengranula, sind blaßviolett. Die Fadenkörner und ihre Derivate sind von intensiv violetter Farbe und so scharf abgegrenzt, daß sie oft wie Bakterien erscheinen." Benda, 01.

255. Für Darstellung sonstiger Protoplasmastrukturen heben wir technisch hervor:

Die Stücke werden mit Pikrinsäurelösungen oder schwach jodiertem Alkohol fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt (Vorbehandlung mit essigsaurem Eisenoxyd, kurzes Auswaschen, $^1/_2$ % wässerige Hämatoxylinlösung, siehe auch § 197) und sehr dünn $^1/_2$—1 μ geschnitten. Bei günstiger Beleuchtung, starken Vergrößerungen und in schwach lichtbrechenden Medien untersucht, zeigen sich gefärbte, wabige (alveoläre, schaumige) Strukturen des Protoplasmas: an tierischen Zellen, z. B. an Ovarial-Eiern der Knochenfische, Blutzellen des Frosches, Dünndarmepithel (Bütschli, 92).

Belgische Forscher (Van Beneden und Neyt) gebrauchen mit Vorliebe und Erfolg entweder als Färbemittel allein, oder als Fixations- und Färbemittel Methylgrün — Eisessiglösung. Methylgrün wird in 2—3 %iger Essigsäure gelöst (Carnoy), nach der Färbung ($^1/_2$ Stunde) wird mit 2—3 %iger Essigsäure ausgewaschen und diese durch Glyzerin substituiert.

256. Für Darstellung der Zellengranula bedient sich Altmann (94) folgender Methode: Fixierung in einer Mischung, welche durch Zusammengießen gleicher Volumina einer 5 %igen Lösung von Kaliumbichromat und einer 2 %igen Lösung der Überosmiumsäure erhalten wird. Die dem eben getöteten Tiere entnommenen Organstückchen kommen in diese Lösung, werden 24 Stunden darin belassen, dann in fließendem Wasser mehrere Stunden gewaschen und, nachdem sie einige Zeit nacheinander in Alkohol von 75 %, 90 %, 100 % gelegen haben, mit Hilfe des Xylols (zwischen absoluten Alkohol und Xylol wird Xylol 3 und abs. Alk. 1 Teil eingeschaltet) mit Paraffin durchtränkt und 1—2 μ dick geschnitten.

Altmann klebt nach folgender Methode auf: Eine Lösung von 1 Guttapercha in 6 Chloroform (als Traumaticin in den Apotheken käuflich) wird für den Gebrauch mit dem 25fachen Volumen Chloroform verdünnt, die verdünnte Lösung über den Objektträger gegossen, abgetropft und der Objektträger nach dem Verdunsten des Chloroforms über der Gasflamme stark erhitzt. Auf solche vorrätig gehaltene Objektträger kommen die Paraffinschnitte und werden hier mit einer Lösung von Schießbaumwolle in Aceton und Alkohol angepinselt. (2 g Schießbaumwolle in 50 ccm Aceton gelöst und hiervon 5 ccm mit 20 ccm Alkohol verdünnt.) Nach dem Anpinseln werden die Schnitte mit Fließpapier stark an den Objektträger angedrückt und nach dem Trocknen angeschmolzen. Solche Schnitte können dann ohne Gefahr mit verschiedenen Lösungs- und Färbungsmitteln behandelt werden.

So aufgeklebte Schnitte werden mit Xylol von Paraffin befreit und in Alkohol übertragen. Dann wird eine kalt gesättigte und filtrierte Lösung von Anilin in Wasser hergestellt und in 100 ccm derselben 20 g Säurefuchsin gelöst. Von dieser Lösung bringt man eine Quantität auf den Objektträger und erwärmt denselben über freier Flamme, bis sich seine Unterfläche empfindlich heiß anfühlt und die Farbstofflösung dampft. Dann läßt man abkühlen und spült den Farbstoff mit einer Pikrinsäurelösung ab, welche durch Vermischen eines Volumens konzentrierter Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol mit 2 Volumina Wasser hergestellt ist. Dann gießt man eine neue Portion der Pikrinsäurelösung auf den Objektträger und erwärmt denselben. Dauer etwa 30—60 Sekunden (event. das Verfahren wiederholen). Da Xylol die Osmiumschwärzung extrahiert, so empfiehlt es sich, statt Xylol-Kanadabalsam entweder Paraffinum liquidum nach Altmann, oder abgedampften Kanadabalsam zu gebrauchen (siehe § 157). Die Granula sollen scharf gefärbt hervortreten, das übrige dagegen keinen oder nur einen graugelblichen Farbenton zeigen.

257. Eine Methode (Altmann, 94), welche die »Reaktionsfähigkeit der Gewebe« in ihrem natürlichen Zustand konserviert und daher einen durchaus »universellen Charakter« hat, und vermittelst der selbst die subtilsten Formen so vollkommen erhalten werden, wie auf keine andere Weise, sieht Altmann in folgendem Vorgehen: Man läßt frische Organstückchen gefrieren und trocknet dieselben in gefrorenem Zustande bei einer Temperatur von unter —20° C über Schwefelsäure im Vakuum vollständig aus. Das Austrocknen dauert ein paar Tage, man erhält der Sicherheit wegen die Temperatur während dieser Zeit am besten nahe an —30° C, da bei —10° bis —15° die Objekte schrumpfen. »Austrocknen unterhalb der kritischen Temperatur.« Maschinelle Einrichtungen verdienen für dieses Verfahren den Vorzug. Die im Volumen unveränderten Präparate werden mit geschmolzenem Paraffin im Vakuum direkt durchtränkt. Mit dieser Methode ist unseres Wissens nicht weiter gearbeitet worden.

258. Altmanns (92) Methode der Darstellung des intergranulären Netzwerkes in der Zelle:

Mischung A: Molybdänsaures Ammoniak 2,5
Chromsäure 0,25
Wasser 100

(je nach den Objekten wird die Chromsäuremenge zwischen $^1/_4$—1% variiert). Mit molybdänsaurem Ammoniak allein erscheinen die Zellen homogen, mit Zusatz von 0,5—1% Chromsäure grobnetzig. — In der Mischung A läßt man die frisch eingelegten Stücke etwa 24 Stunden, dann übertrage man sie direkt in Alkohol und nach einigen Tagen in Paraffin. Färbung wie gewöhnlich, Hämatoxylin, Gentiana etc.

259. Nach Fischer (99, vgl. auch 93) liefern Niederschläge, welche sich aus sauren Eiweißlösungen durch das Altmannsche Gemisch (s. § 256) erhalten lassen, dieselben Färbungen wie die Altmannschen Granula. Wenn man, statt nach der Altmannschen Vorschrift zu verfahren, zur simultanen Doppelfärbung greift (Gemisch aus Pikrinsäure und Säurefuchsin), so erhält man eine Inversion der Granulafärbung, indem sich die großen und mittleren Granula rein pikringelb, alle kleineren und kleinsten intensiv rot färben. Hieraus folgert Fischer, daß die Altmannsche Färbung kein spezifisches Reagens auf Zellgranula ist.

Für dieses Kapitel zitieren wir außer den im Text gegebenen Literaturnachweisen die Arbeiten von Flemming (82, 91a u. b 95), Hermann (93), Häcker (99), Meves (03).

2. Kapitel.

Epithelien und Endothelien.

260. **Frisch** werden die Epithelien durch leichtes Abschaben von der Oberfläche mit einem scharfen Messer gewonnen. Für die Entnahme der Pflasterepithelien ist die Mundhöhle zu empfehlen. Für die Beobachtung der Flimmerepithelien dienen als klassische Objekte die Gaumenschleimhaut der Frösche oder die Kiemenplättchen der Muscheln. Viele in der Harnblase und Kloake des Frosches stets anzutreffende Parasiten haben eine flimmernde Oberfläche.

Die Untersuchung geschieht zunächst in der physiologischen Kochsalzlösung, und man würde gut daran tun, sich über die Einwirkung der schwachen Säuren und Alkalien auf die Flimmerung zu orientieren (1 Kalilauge auf 1000 Wasser, Alkalien wirken erregend.) In den Präparaten des Mundspeichels trifft man neben den Epithelien Speichelkörperchen an; bei Untersuchung derselben achte man auf molekuläre Bewegung.

261. Dann werden Epithelien untersucht, indem man dieselben isoliert. Dies geschieht durch Einlegen von Epithelfetzen, event. von Stücken mit Epithelien ausgekleideter Organe (z. B. Darm, Trachea) in Isolierungsflüssigkeiten. Nach verschiedener Zeit können die Zellen durch Schütteln oder Zupfen mit Nadeln isoliert werden. Untersucht kann in der Isolierungsflüssigkeit werden oder aber, indem man Glyzerin zusetzt, färbt (einen Tropfen Pikrokarmin am Rande des Deckgläschens zufließen lassen) und umrandet. Zu den besten **Isolationsmitteln** für Epithelien gehört:

262. Der sogenannte $^1/_3$ Alkohol von Ranvier (28 Alk. absol. und 72 Wasser). Nicht allzu große Fetzen eines frischen Epithels werden in wenig Flüssigkeit 12—24 Stunden belassen, und es erfolgt die Isolation in der Regel schon durch bloßes Schütteln oder aber durch Zupfen mit Nadeln auf einem Objektträger. Die Cilien der Flimmerepithelien werden erhalten, und die nachträgliche Färbung auf dem Objektträger ist zulässig.

Als weitere Isolationsmittel für Epithelien führen wir an:

263. Jodserum von M. Schultze (siehe § 13).

264. Osmiumsäure 1 auf 1000.

Kleine Stücke werden in dieser Flüssigkeit 24 Stunden und mehr belassen, mit Wasser gewaschen und im Wasser selbst oder in Glyzerin zerzupft.

265. Sehr schwache Chromsäurelösung $^1/_{10}$ %ig. Einwirkung 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchen Kampfers.

266. Sehr schwache $^1/_2$ bis 1 %ige Kalium- und Ammon.-bichrom.-Lösung oder verdünnte Müllersche Flüssigkeit. Einwirkung mindestens 24 Stunden bis Wochen; im letzteren Falle mit Zusatz eines Stückchens Kampfer.

267. Ewald (97) isoliert Schleimhautepithelien mit Ranviers Drittelalkohol 24 Stunden, fixiert mit $^1/_2$ %iger Osmiumsäure und wäscht unter Abhebern (s. § 268), Zugießen von Wasser, Absitzenlassen und wieder Abhebern usf. aus. Man kann in derselben Weise mit Alaunkarmin oder Pikrokarmin färben und auswaschen und in 50 %igem Alkohol für späteren Einschluß in Glyzerin aufheben. Für Flimmerzellen ist die Mazeration in Müllerscher Flüssigkeit besser als Drittelalkohol. Froschgaumen 24 Stunden, wie oben, isolieren, mit $^1/_3$ %iger wässeriger Hämatoxylinlösung färben, wie oben unter Abhebern auswaschen und einschließen.

268. Bei Dr. Mays' Heber, welchen Ewald (97) empfiehlt, ist der in Flüssigkeit versenkte kürzere Heberschenkel am unteren Ende nochmals nach oben umgebogen und dann kurz über der Biegung abgeschnitten, so daß die freie Öffnung des Hebers nach oben gerichtet ist. Mit einem derartigen Heber kann die Flüssigkeit fast bis zum letzten Tropfen, ohne irgend etwas vom Bodensatz mitzunehmen, abgehebert werden.

269. Noch besser behandelt man vorher isolierte Zellen und Fasern mit einer Zentrifuge.

»Hat man das Gewebe in geeigneter Weise mazeriert, so wird es im Reagensglas geschüttelt, bis die Elementarteile sich in gewünschter Weise isolieren. Bleiben dabei noch grobe Gewebeteile übrig, welche von vornherein beseitigt werden sollen, so läßt man kurz absetzen und dekantiert dann die überstehende zellenreiche Flüssigkeit. Nunmehr schleudert man letztere auf der Zentrifuge aus und erhält die Masse der Zellen als dicken Bodensatz; man gießt jetzt die Mazerationsflüssigkeit ab und schwemmt die Zellen in destilliertem Wasser auf, um sie zu waschen, schleudert abermals aus, dekantiert das Waschwasser und gibt über den Bodensatz die Farbflüssigkeit, schwemmt die Zellen in der Farbe auf, läßt färben, schleudert wiederum aus, gießt die Farbe ab, mischt zum zweitenmal mit Wasser, schleudert aus, härtet auf der Zentrifuge in steigendem Alkohol nach, indem man die Zellen immer wieder als Bodensatz auf dem Grund des Gefässes sammelt, bringt sie auf diese Weise schließlich in absoluten Alkohol, schleudert aus und gießt Xylol auf, mischt die Masse sorgfältig mit dem Xylol, schleudert zum letztenmal aus und gießt reines Xylol über.« Heidenhain, 03a.

270. Bei der Beobachtung der Epithelien oder Endothelien, frisch von der Fläche, sieht man die Zellgrenzen entweder gar nicht oder sehr undeutlich. Um diese hervortreten zu lassen, bedient man sich der sogenannten **Versilberungsmethode** (Ranvier [68 und 89]).

Dünne frische Membranen, Mesenterien, Perikardiumstücke, aufgeschnittene dünne Gefäße, aufgeblasene Lungenalveolen usw. werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit abgespült, um die anhaftenden Blutkörperchen etc. fortzuschwemmen. Sie werden alsdann in eine ca. $^1/_2\,\%$ige wässerige Höllensteinlösung übertragen und so lange darin belassen, bis die Stücke anfangen, undurchsichtig zu werden. Ist das der Fall, so werden die Stücke aus der Höllensteinlösung in viel destilliertes Wasser übertragen und an einem von der Sonne beschienenen Orte so lange stehen gelassen, bis die Stücke anfangen, sich zu bräunen. Daraufhin werden sie noch einige Male mit destilliertem Wasser tüchtig abgespült und entweder in Glyzerin und ähnlichem untersucht, oder aber allmählich in absoluten Alkohol übertragen, wobei für eine geeignete Spannung der Membranen (z. B. Ausspannen mit Nadeln auf einem Kork) Sorge zu tragen ist. Xylol, Kanadabalsam. An solchen Stücken erscheinen, wenn die Versilberung gelungen ist,

die Zellgrenzen, resp. die Kontaktflächen der Zellen schwarz, der Zellleib und die Kerne derselben gar nicht oder wenig tingiert.

Eine nachträgliche Färbung der Kerne, etwa mit Boraxkarmin oder Hämalaun, ist zulässig. Sie wird am besten nach dem Behandeln mit Alkohol eingeschoben.

271. 1844 hat C. Krause (44) an der Epidermis mit Silbernitrat Zellgrenzen dargestellt und in einer Dissertation, die unter Coccius 1854 erschienen ist, hat Flinser darauf aufmerksam gemacht, daß nach der Ätzung des Hornhautepithels mit einem Höllensteinstift Niederschläge zwischen den Zellen entstehen.

272. Der Kontakt von gewöhnlichen Blechspateln, eisernen Nadeln, Pinzetten etc. mit Silberlösungen ist auf das sorgfältigste zu vermeiden, und man kann sich leicht mit improvisierten Instrumenten helfen, die man aus Holz, Horn, Borsten, Stacheln etc. zusammenbaut. Zwei Igelstacheln würden ohne weiteres Nadeln ersetzen, zwei geeignet zugeschnittene Stückchen Holz oder Horn, in der Verlängerung einer gewöhnlichen Pinzette festgebunden, eine breitere dünne Lamelle aus hartem Holz werden in diesem Falle im allgemeinen zum Ziele führen.

273. Als Lösungsmittel für Silbernitrat kann statt des Wassers eine $^1/_2$%ige Osmiumsäure (O. und R. Hertwig) oder eine 2 bis 3%ige Salpetersäure genommen werden. Man lasse die Flüssigkeit etwa $^1/_4$ Stunde einwirken, wasche mit destilliertem Wasser längere Zeit, etwa $^1/_2$ Stunde, ab, übertrage in Spiritus von 70%, färbe eventuell nach (Hämatoxylin oder Karmin) und überführe in Kanadabalsam nach bekannten Regeln.

274. Behandelt man die überlebenden Gewebe: Mesenterien, Sehnen, kleinere Nerven usw., mit Methylenblau-Kochsalzlösung (s. § 455), so kann man Zellgrenzen von Endothelien (resp. Sehnenzellen, Ranviersche Kreuze) nebenbei zur Darstellung bringen.

275. Das Schlußleistennetz stelle man nach § 199 dar.

276. Um Interzellularbrücken darzustellen, empfahl Kolossow (92): Feine Membranen, kleinste Gewebsstücke (auch vorher fixierte Stücke), kommen auf kurze Zeit (etwa $^1/_4$ Stunde) in eine $^1/_2$—1%ige Osmiumsäure oder in

Alkohol	50	ccm
Wasser	50	»
Acid. nitr. conc.	2	»
Osmiumsäure	1—2	g

und dann in eine 10%ige wässerige Tanninlösung oder den sog. Entwickler:

Wasser	450
85%iger Alkohol	100
Glyzerin	50
Tannin puriss.	30
Pyrogallussäure	30.

(Zur Darstellung des Entwicklers werden 30 g Tannin in 100 Wasser gelöst, nach 1 oder 2 Tagen wird filtriert, zum Filtrat gibt man 30 g Pyrogallussäure, die in 100 ccm Wasser gelöst sind, und darauf die übrige Quantität Wasser, den Alkohol und das Glyzerin.) Im Entwickler verbleiben die Stücke einige Minuten, werden dann 5 Minuten in einer schwachen Osmiumsäure abgespült, Waschen mit destilliertem Wasser, Alkohol etc. Vgl. auch § 695.

277. Nunmehr empfiehlt Kolossow (98) folgende Methode: Nachdem die Blutgefäße der zu untersuchenden Organe mit 0,6% Kochsalzlösung ausgespült worden sind, injiziert man in die Blutgefäße die Mischung: ½% Osmiumsäurelösung (in Wasser) 100 ccm, ½—1 ccm einer 30%igen Salpetersäure, 1 ccm Eisessig, Kalium nitricum 10—12 g.

Die in kleine Stücke zerschnittenen Organe kommen alsdann auf 16—24 Stunden in ½%ige Osmiumsäure und auf ebensolange in eine 10%ige zu wechselnde (bis die Schwärzung schwindet) Tanninlösung. Wasser, Alkohol von 70%, 85%, 96%, abs.; Schneiden in Paraffin. Färbung nicht nötig.

278. Eine analoge Methode hat Woronin (98) für Schnittfärbung vorgeschlagen. Er färbt Schnitte in 1% Osmiumsäure — 10 Minuten oder länger —, behandelt sie ebensolange mit gesättigter Tanninlösung, überträgt sie auf etwa 20 Minuten in Osmiumsäure und wäscht dann längere Zeit mit abs. Alkohol.

3. Kapitel.

Blut und Lymphe.

279. Die roten Blutkörperchen können **direkt** untersucht werden. Man gewinnt einen Blutstropfen, wenn man z. B. sich selbst in die Fingerbeere einsticht; bei passendem Druck auf den Finger pflegt der Tropfen hervorzutreten und kann auf den Objektträger gebracht, mit einem Deckgläschen bedeckt und untersucht werden.

Will man die Geldrollenanordnung der Blutkörperchen erhalten, so muß man einen größeren Tropfen entnehmen.

Hat man nicht genügend rasch operiert, so findet man bereits alle Blutkörperchen hochgradig verändert infolge der Verdunstung usw. Bessere Resultate bekommt man, wenn man über die Stichwunde zwei aneinandergedrückte Deckgläser hält und den Tropfen nun auspreßt. Er gerät in den kapillaren Raum und verbreitet sich dort in dünner Schicht. Statt zweier Deckgläser kann man natürlich auch Objektträger und Deckglas in einer passenden Weise kombinieren.

Ist das Präparat fertig, so sorge man dafür, daß keine weitere Luft zu dem untersuchten Tropfen zutrete, indem man das Deckgläschen z. B. mit Öl umrandet.

280. Hat man genügend unveränderte rote Blutscheiben studiert, so untersuche man zunächst einen Blutstropfen an einem ohne besondere Vorsichtsmaßregeln angefertigten Präparate. Die Blutkörperchen werden zackig, »stechapfel-«, »morgensternförmig«. Man setze anderen Präparaten Wasser zu; man sieht alsbald, daß die Blutkörperchen, wo sie vom Wasserstrom getroffen werden, sich zunächst aufblähen. Dann löst sich im Wasser der Blutfarbestoff (Hämoglobin), die Blutkörperchen werden blaß und entziehen sich mehr und mehr dem Auge des Beobachters. (Schatten.) Setzt man nun 5% Kalichloricum-Lösung hinzu, so schrumpfen die Blutkörperchen stark zusammen und nehmen dabei das verlorene Hämoglobin wieder auf. Ähnlich wirkt Kochsalz und Glaubersalz. Schwalbe E.

281. Man setze einem anderen Präparate verdünnte Essigsäure zu; die roten Blutkörperchen blähen sich im Momente der Berührung mit der Essigsäure auf, werden zunächst etwas dunkler, um dann rasch den Farbestoff abzugeben.

282. Man vergesse nicht, auch Galle desselben Tieres zuzusetzen, namentlich weil man dabei eine direkte Lösung der Blutkörperchen beobachten kann; sie blähen sich auf und explodieren förmlich.

283. Die Rindenschicht der Erythrozyten ist für Kochsalzlösungen nicht durchgängig (Schrumpfung), wohl aber für Harnstoff.

Die Erythrozyten sind weiter impermeabel für: Natrium-, Kalium-, Kalzium-, Baryum-, Strontium- etc. Salze, ferner für Dextrose und Inosit; sie schrumpfen in diesen Substanzen. Permeabel sind sie für Ammoniumchlorid, Ammoniumacetat, Ammoniumoxalat, Methyl-, Äthylalkohol, Glyzerin, Acetamid, Biuret, Pyridin (Cohnstein, 96).

284. Den Randfaden von Meves demonstriert man an frischen roten Blutkörperchen von Salamandra mac. oder atra, indem man zu einem Bluttropfen Gentiana- oder Methylviolett in einer $^1/_4$—$^1/_2$ %igen Lösung zusetzt.

285. Für Untersuchung der Blutplättchen braucht man die **Afanassiewsche** (84) **Flüssigkeit**: 0,6 des trockenen Peptons, gelöst in 100 physiologischer Kochsalzlösung. Zu dieser Flüssigkeit wird im Verhältnis von 1 : 10000, ja sogar 1 : 20000 Methylviolett hinzugesetzt. Die Mischung wird gekocht. Ein Tropfen dieser Flüssigkeit wird auf der Haut, etwa der Fingerbeere, die vorher gut gereinigt worden ist, deponiert, unter derselben ein Nadelstisch gemacht, so daß das Blut in die Flüssigkeit direkt eindringt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. Diese Flüssigkeit konserviert auch die roten und die weißen Blutkörperchen.

Da diese Flüssigkeit leicht fault, so müssen die Gefäße, in welchen sie aufbewahrt wird, vorher sterilisiert, die gekochte Flüssigkeit filtriert und eine unbedeutende Menge von Sublimat oder Karbolsäure zugesetzt werden.

Verwendet man in analoger Weise 1 %ige Osmiumsäure (ohne Farbenzusatz), so werden die Blutplättchen ebenfalls gut erhalten.

286. Zahlreiche als Fixationsmittel angewandte Flüssigkeiten rufen in den Blutkörperchen gröbere Struktur- und Formveränderungen hervor, z. B. die Hayemsche Lösung (Kaiserling und Germer, 93).

287. Ewald (97), pag. 257 ff., empfiehlt für Blutkörperchen-Untersuchung Osmiumsäure; rote Blutkörperchen nehmen darin olivengrüne Farbe an (für Amphibien und Reptilien $^1/_2$ %ig in 0,6 % Kochsalz, für Säugetiere $^1/_2$ %ig in 0,9 % Kochsalz), 3—4 Tropfen Blut auf 10 ccm Flüssigkeit. Auf die Einschnittstelle kommt Flüssigkeit, damit das Blut gar nicht mit Luft in Berührung kommt, wie in § 285. Nach 24 Stunden bringt man den Bodensatz in ein Probierröhrchen, füllt mit Wasser auf, läßt absitzen und hebert mit dem von Mays eingeführten Heber (siehe § 268) die Flüssigkeit ab und wiederholt dies; für kernhaltige Blutkörperchen 24 Stunden in Alaunkarminlösung färben, dann wieder abhebern und 50 %igen Alkohol zusetzen, in welchem sich die Blutkörperchen jahrelang (für Kurszwecke) halten. Einschließen entweder durch abs. Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam in derselben Weise (Heber) oder in Glyzerin. Auch in diesem Fall kann man die Zentrifuge mit Erfolg anwenden, Heidenhain (03 a).

288. Um **rote Blutkörperchen auf Schnitten** (in den Gefäßen, fixierten Objekten entnommen) zu erkennen, gibt es eine Reihe von Färbemethoden.

289. Bei der Doppelfärbung mit Hämalaun-Eosin (siehe § 221) nehmen die roten Blutkörperchen eine eigentümlich leuchtend rote Farbe an, welche dieselben sofort als solche erkennen läßt.

290. Wissozky (77) hat das Eosin als Reagens auf hämoglobinhaltige Zellen in folgender Zusammensetzung empfohlen:

Eosin	1
Alaun	1
Alkohol	200

Noch besser gelingt diese Reaktion, wenn man das Präparat vorher ein paar Minuten mit einer 1%igen Osmiumsäure behandelt (Thanhoffer, 77).

291. Für Sublimatpräparate empfiehlt R. Heidenhain (88) die Ehrlich-Biondische Methode (siehe § 233), mittels welcher sich Blut orange färbt. — Sublimat-Kochsalz fixiert die roten Blutkörperchen relativ gut (besser wie Sublimat in Wasser gelöst) und löst das Hämoglobin nur wenig. H. F. Müller.

292. Zum Nachweis der **weifsen Blutkörperchen** im Blut der Säugetiere setzt man einem Blutstropfen unter dem Objektträger einen Tropfen Essigsäure zu. Nachdem die roten Blutkörperchen undeutlich geworden sind (siehe § 280), treten die Kerne der weißen deutlich hervor.

293. Amöboide Bewegungen der weißen Blutkörperchen der Säugetiere kann man im Präparate sehen, wenn man dieselben einer Temperatur aussetzt, die etwa der Körpertemperatur entspricht; dies geschieht mittels des Wärmetisches. Dabei muß man rasch arbeiten. Bei gewöhnlicher Temperatur kann man amöboide Bewegungen der weißen Blutkörperchen von Amphibien (Frosch, Salamander) beobachten. Noch ausgiebigere Bewegungen sieht man an der Lymphe des Flußkrebses.

294. Um mikroskopische Präparate einer andauernden, bestimmten höheren Temperatur aussetzen zu können, wurde eine Reihe von Apparaten, sogenannte erwärmbare Objekttische, konstruiert. Ein einfacher und wohlgeeigneter ist der von M. Schultze (65) angegebene. Derselbe besteht aus einer Tischplatte von Messing, welche auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Klammern befestigt werden kann. In der Mitte hat dieselbe eine auf das Loch des Tisches passende Öffnung, um die Lichtstrahlen durchzulassen. Ganz

in der Nähe dieser Öffnung ist ein Thermometer so befestigt, daß man stets die Temperatur des Tisches und damit des darauf liegenden Objektes ablesen kann. Seitlich läuft der Messingtisch in zwei Arme aus, unter welche Spirituslampen gestellt werden können. Durch Leitung wird so dem Tisch Wärme zur Erzeugung der gewünschten höheren Temperatur zugeführt. Es gibt moderne Apparate, welche handlicher sind und exakter arbeiten.

295. Einen indirekten Beweis der amöboiden Bewegung der Leukozyten erhält man, wenn man ein kleines Stückchen Hollundermark in den Lymphsack (am Rücken unter der Haut) eines Frosches bringt und die Wunde vernäht. Nach 24 Stunden tötet man das Tier, fixiert das Hollunderstückchen, durchtränkt es mit Paraffin, schneidet und färbt es. Man findet dann dasselbe durchzogen von Leukozyten.

Arnolds Methode ist die folgende: »Ich war so verfahren, daß ich die mittels des Mikrotoms möglichst fein geschnittenen und in kochender Chlornatriumlösung (0,6—0,7 %ig) sterilisierten Plättchen in den Lymphsack einschob. Nach wenigen Stunden sind die Maschen dieser mit Wanderzellen gefüllt. Nach ihrer Entfernung aus dem Lymphsack werden sie an einem mit Vaselin umrandeten größeren Deckglas aufgehängt und dieses auf einen hohlgeschliffenen Objektträger aufgelegt.«

296. Um die roten oder weißen Blutkörperchen dauernd aufzuheben, empfiehlt es sich, eine sehr dünne, auf dem Objektträger ausgebreitete Blutschicht mit Osmiumsäuredämpfen zu räuchern (siehe § 39).

297. Die Ausbreitung des Blutstropfens auf dem Objektträger, resp. Deckgläschen, geschieht, indem man einen frisch entnommenen Tropfen Blut sich zwischen zwei aufeinandergelegte Deckgläschen durch Kapillarität einsaugen läßt und dann die Gläschen auseinanderzieht.

298. Eine rohe Methode, die mitunter zu guten Resultaten führt, ist die folgende: Eine möglichst dünne Schicht frischen Blutes wird auf einem Objektträger an der Luft getrocknet und mehreremal sehr rasch über eine Spirituslampe gezogen, mit einem Deckglase bedeckt, das letztere umrandet (siehe § 162) und so als Präparat aufgehoben. **Trockenpräparate.**

299. So behandelte Präparate kann man noch nachträglich färben, indem die Blutkörperchen durch die Gerinnung des im Serum enthaltenen Eiweißes (Serumalbumin) genügend auf dem Objektträger angeklebt sind, um die erforderlichen Operationen zu gestatten.

Sehr dankbar erweist sich hier die Doppelfärbung mit Hämatoxylin und nachträglich (oder zuvor) mit Eosin.

300. Eine sehr gute Methode zur Herstellung von **Blutpräparaten** besteht darin, daß man Blut auf dem Objektträger möglichst dünn ausbreitet (s. § 297) und dann rasch den Objektträger auf 10 Minuten in eine **konzentrierte Sublimatlösung** in physiologischer Kochsalzlösung (s. § 53) steckt. Dann wird mit Wasser, welches mehrmals gewechselt wird, abgewaschen. Es kann aus dem Wasser direkt in die Farbe übertragen oder Alkohol eingeschaltet werden. Diese Methode fixiert Blut- und Lymphkörperchen relativ gut und gestattet, indem sie gleichfalls anklebt, eine Reihe von Doppelfärbungen (z. B. Hämatoxylin-Eosin, Methylgrün-Eosin, resp. statt Eosin Orange u. a. m.).

301. Nach Ehrlich (91) sollen die Blutpräparate vor der Färbung einer Temperatur von 120° unterworfen werden, eine Temperatur, die man nicht ohne spezielle Vorrichtungen erlangen kann. Diese Vorbehandlung soll aber nach Nikiforoff vollkommen das Behandeln mit einer Mischung von absolutem Alkohol und Äther zu gleichen Teilen auf 1—2 Stunden ersetzen. (Alkohol soll ganz wasserfrei sein, was man mit geglühtem Kupfervitriol [siehe § 74] erzielen kann.) Nun werden die Präparate an der Luft getrocknet, und es kann weiter nach Ehrlich gefärbt werden, und zwar mit demselben Erfolge.

302. Ehrlich hat Zellen mit granuliertem Zelleib nach ihrem Färbungsvermögen mit Anilinfarben (vergleiche Ehrlichs Klassifikation der Anilinfarben in § 204) in verschiedene Gruppen eingeteilt, die er α—ε benennt. Dieselben sind folgende:

303. 1. Eosinophile oder azidophile Zellen mit α-Granulationen kommen vor in Blut, Lymphe und Geweben. Diese charakterisieren sich durch ihre Verwandtschaft zur großen Reihe der sauren Teerfarbstoffe, d. h. solcher, in denen die Säure das färbende Prinzip darstellt.

In erster Linie gehört hierher Eosin.

Man färbt entweder in in Glyzerin gesättigtem Eosin (resp. Indulin) oder gesättigter wässeriger Orange-, Eosin- oder Indulin-Lösung 12 Stunden, Spülen mit Wasser, Trocknen, Kanadabalsam. — Granula purpurrot. — Oder: zu Ehrlichs Hämatoxylin (s. § 191) kommt 1 g oder 0,5 g Eosin hinzu. Die Flüssigkeit läßt man vor dem Gebrauche 3 Wochen im Lichte stehen; sie färbt in einigen Stunden, Spülen in Wasser — Kerne blau, Granula leuchtend rot.

304. 2. Zellen mit β-Granulationen (amphophile, indulinophile) tingieren sich in sauren und basischen Farben. Sie kommen vor im Blut von Meerschweinchen, Kaninchen und Vögeln. — Darstellung: Gesättigte Lösung von Eosin, Naphthylamingelb, Indulin in Glyzerin; färbt, auf trockene Präparate angewandt, Hämoglobin gelb, Kerne schwarz, α-Granulationen rot, β-Granulationen schwarz.

305. 3. Zellen mit γ-Granulationen und »Mastzellen« färben sich mit allen basischen Farbstoffen, sie kommen vor im Bindegewebe (Mastzellen) und im Blut. Ehrlich färbt sie mit Dahlia in gesättigter Lösung in: Acid. acet. glac.: 12,5, Alkohol absol. 50, Aq. dest. 100 an getrockneten oder in Alkohol mindestens 24 Stunden fixierten Stücken entnommenen Schnitten oder nach folgender Methode:

306. Alaun-Karmin-Dahlia (Westphal 80) wird auf Schnitte angewandt, welche mindestens eine Woche lang in Alkohol fixiert worden sind:

Karmin	2 g
destill. Wasser	200 ccm
Alaun	2 g.

Das Ganze wird $^1/_4$ Stunde gekocht, filtriert (Partsch-Grenacherscher Karmin) und 1 ccm Karbolsäure hinzugesetzt. Zu dieser Karminlösung werden 200 ccm gesättigte Dahlialösung in absolutem Alkohol, 100 ccm Glyzerin und 20 ccm Eisessig hinzugefügt. Das Ganze wird umgerührt und einige Zeit stehen gelassen. In dieser Flüssigkeit beläßt man die in Alkohol fixierten Stücken entnommenen Schnitte 24 Stunden und länger und überträgt sie dann auf ebenso lange Zeit in absoluten Alkohol. Die Schnitte entfärben sich, nur die Kerne behalten etwas von der rötlichen Farbe, es bleiben aber die Granulationen der Mastzellen (auch Knorpelgrundsubstanz) intensiv blau. Material: Interlobuläres Bindegewebe der Leber, Darm etc., Nerven des Frosches.

307. 4. Zellen mit δ-Granulationen (basophile) Ehrlichs; es sind sehr feine Granula, die in mononukleären Leukozyten des menschlichen Blutes vorkommen. Sie werden an erhitzten und unerhitzten Präparaten mit wässeriger konz. Methylenblaulösung dargestellt; sie sind noch wenig studiert.

308. 5. Neutrophile Granulationen (ε-Granula) (in mehrkernigen Leukozyten des menschlichen Blutes, auch Eiters) an getrockneten Präparaten. Darstellung des neutralen Farbstoffs nach Ehrlich: 5 Volumina einer gesättigten Säurefuchsinlösung in Wasser, setze unter Umrühren 1 Volumen einer starken wässerigen Methylenblaulösung und 5 Volumina Wasser zu, lasse einige Tage stehen und filtriere. Man lasse die Farbe 2—5 Minuten einwirken, spüle kurz mit Wasser ab; mit Fließpapier absaugen, trocknen, Kanadabalsam. Rote Blutkörperchen werden dann rot, ε-Granulationen violett, α leuchtend purpurn.

Diese Zellen stammen als mononukleäre aus Milz, Lymphdrüsen, Knochenmark und gehen im Blut in polynukleäre über. (Mononukleäre Leukozyten mit ε-Granula im zirkulierenden Blute nur bei myelogener Leukämie.) Färbt man mit der Biondischen Lösung (s. § 233) wenige Minuten, so wird Hämoglobin gelb, α-Granulationen rot, ε-Granulationen grün.

309. May und Grünwald haben einen Farbstoff angegeben, der bei einer äußerst einfachen Anwendung außerordentlich viel leistet:

Der Farbstoff entsteht bei Mischung von Methylenblaulösung mit Eosin als Niederschlag; seine Lösung in Methylalkohol ist haltbar und zur Färbung vorzüglich geeignet. 1 l 1 prom. Eosin »wasserlösliches, gelbliches,« wird mit 1 l 1 prom. Methylenblau medizinale gemischt und nach einigen Tagen mit Hilfe der Saugpumpe filtriert. Das Filter wird mit kaltem destillierten Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat fast ungefärbt bleibt. Der Filterrückstand bildet eine nach dem Trockenwerden dunkle, sich abblätternde Masse, den neuen Farbstoff. Die gesättigte methylalkoholische Lösung dient zum Färben; sie ist haltbar. Die Präparate brauchen nicht fixiert zu werden. Die Lösung hält sich am besten in einem weiten, gut verschließbaren Standgefäß vorrätig. In dieses wird der frisch beschickte Objektträger sofort nach dem festen Antrocknen auf 2 Minuten (eventuell länger, bis zu 24 Stunden) eingestellt und dann in destilliertem Wasser, welchem einige Tropfen der Lösung zugesetzt sind, im Standglas ausgeschwenkt. Die Herstellung des Präparates dauert 5 Minuten. Resultate: Erythrozyten hellrot, Kerne tiefblau, Leukozytenkerne mäßig tiefblau, α-Granula tiefrot, γ-Granula tiefblau, scharf erkennbar, ε-Granula feine, hellrote Körnchen auf ungefärbtem Grunde, Blutplättchen blaßblau. (Nach dem Referat von Zinn.)

310. R. Heidenhain (88) empfiehlt die von ihm modifizierte Biondi-Ehrlichsche Färbung (s. § 233) zur Unterscheidung folgender Arten von Wanderzellen in Schnitten:

1. Zellen mit einem sehr kleinen, fast farblosen Protoplasmaleibe,
2. mit größerem hell-rosa gefärbtem Protoplasma,
3. Körnchenzellen,
4. Zellen mit intensiv dunkel-blaugrünem Kern und intensiv dunkelrotem Protoplasma (nach der Annahme Heidenhains untergehende Formen).

311. Plehn (90) untersucht Blut zwischen zwei Tropfen Paraffinum liquidum (erst ein Tropfen, darauf Blut, darauf zweiter Tropfen, Deckgläschen).

312. Um die Hämoglobin- (Blut-) Kristalle (vergleiche darüber C. B. Reichert [49 b]) herzustellen, verfahre man folgendermaßen: man entnehme einem frisch getöteten Tiere, Pferde, Meerschweinchen, etwas Blut und defibriniere es durch Schlagen oder durch Schütteln mit Quecksilber. Das so defibrinierte Blut wird mit Schwefeläther, welchen man tropfenweise zusetzt, längere Zeit geschüttelt, bis die bekannte Lackfarbe auftritt. Dieses lackfarben gewordene Blut darf unter dem Mikroskop keine intakten roten Blutkörperchen mehr zeigen. Der rote Blutfarbestoff ist gelöst. So defibriniertes und lackfarben gewordenes Blut wird in einem flachen Gefäß auf 12—24 Stunden auf Eis gestellt. Wenn man nun einen Tropfen auf den Objektträger bringt, $^1/_2$ Stunde liegen läßt (man kann die Prozedur dadurch abkürzen, daß man den Objektträger gelinde erwärmt), so fängt der Tropfen an zu trocknen, und zwar zunächst am Rande, wo sich ein dunkler, fester Ring bildet. Bedeckt man den Tropfen mit einem nicht allzugroßen Deckglase, so fangen zunächst in der unmittelbaren Nähe des Ringes und an demselben zahlreiche Kristalle an sich zu bilden, deren Entstehen man unter dem Mikroskop auch mit starker Vergrößerung direkt beobachten kann.

Das Anfertigen eines Dauerpräparates ist nicht lohnend wegen der Kompliziertheit des hierbei einzuschlagenden Verfahrens.

Man kann diese Kristalle in dickem Kanadabalsam sich bilden lassen. Solche Kristalle halten sich monatelang.

313. Schließt man defibriniertes Blut hermetisch in eine Glasröhre, läßt sie in einem Thermostat (40° C) zwei bis drei Tage liegen, zerbricht das Gläschen und läßt das so behandelte Blut in eine flache Schale ausfließen, so bilden sich schon mit bloßem Auge sichtbare Hämoglobinkristalle (Gscheidlen, 76).

314. Man nehme einen Tropfen Blut und verreibe denselben mit einem ebenso großen Tropfen einer Kochsalzlösung (auf die Konzentration kommt es nicht an), etwa mit einer Nadelspitze, sorgfältig. Dann erwärme man vorsichtig, bis ein trockener rostbrauner Rückstand verbleibt, bedecke diesen mit einem Deckglase, lasse Eisessig zufließen und bringe durch Erwärmen den Eisessig ein paarmal zum Kochen, wobei darauf zu achten ist, daß das Deckgläschen nicht abspringt. (Die Prozedur des Aufkochens wird wiederholt, indem man die verdunstete Flüssigkeit [Eisessig] durch eine frische ersetzt.) Ist der Eisessig verdunstet, so kann man direkt Kanadabalsam unter das Deckgläschen zufließen lassen. Es haben sich zahllose braunschwarze Kristalle gebildet, welche in Kanadabalsam

dauernd aufgehoben werden können. Es sind die **Teichmann-schen** (53) **Häminkristalle** (Hämin = salzsaures Hämatin).

Diese Kristalle sind fast unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Ammoniak, Eisessig, verdünnter Schwefel- und Salpetersäure; sie lösen sich in Kalilauge.

Als Verunreinigung kommen amorphe Hämatinmassen und Kochsalzkristalle in solchen Präparaten vor.

315. Man kann gelegentlich noch ein Derivat des Blutfarbestoffes in apoplektischen Herden, in den gelben Körpern der Eierstöcke usw. antreffen. Es sind rotgelbe Massen, die aus fuchsroten, rhombischen, eisenfreien **Hämatoidinkristallen** bestehen (Virchow, 47).

Man kann sie in Kanadabalsam aufbewahren.

316. Kristallhaltige Blutkörperchen erhält man bei Salamanderblut, wenn man 3—4 Tropfen in einem Uhrschälchen mit 10 ccm verdünnter, 0,45%iger Kochsalzlösung auffängt, 24 Stunden stehen und absitzen läßt; sie können dann in der von Ewald (97) in § 267 f. angegebenen Weise durch 1%ige Osmiumsäure (Zusatz einer gleichen Menge zur Kochsalzlösung) konserviert werden. Es lassen sich nach der Rollett-schen Methode durch Gefrieren und Wiederauftauen erhaltene kristallhaltige Säugetier-Blutkörperchen (am besten Hundeblut) in derselben Weise mit Osmiumsäure konservieren.

317. Um Fibrin auf dem Objektträger darzustellen, lasse man einen Blutstropfen ein paar Stunden in einer feuchten Kammer ruhig liegen, bedecke das Ganze mit einem Deckglase und wasche mit Wasser ab, indem man von der einen Seite des Deckglases Wasser zusetzt und auf der anderen Seite mit Fließpapier absaugt. Sind die meisten Blutkörperchen weggeschwemmt, setzt man Jod-Jodkaliumlösung hinzu, wodurch sich die Fibrinfädchen und -netze intensiv gelb bis braun färben.

318. Fibrinfärbung (Neelsen, Grundriß der path.-hist. Technik). Methode von Weigert. Härtung am besten in Alkohol. Die Schnitte kommen auf mindestens 10 Minuten in konz. Anilinwasser-Gentianaviolettlösung, dann werden sie flüchtig in 0,6% Kochsalzlösung abgespült und in einem Schälchen (oder bei empfindlichen Schnitten besser auf dem Objektträger) mindestens 10 Minuten lang mit Jod-Jodkalilösung (1 : 2 : 300) oder gesättigter Lösung von Jod in 5% Jodkalilösung behandelt, dann auf dem Objektträger ausgebreitet, durch Abtupfen mit Fließpapier möglichst getrocknet und so lange mit mehrfach gewechseltem Anilinöl (2 Teile auf 1 Teil Xylol) entfärbt, bis sie durchsichtig geworden sind und die Färbung distinkt erscheint. Das Anilinöl wird durch Xylol sorgfältig entfernt, dann wird in Balsam eingeschlossen.

319. Fibrinfärbung nach Kockel (99). Die in Paraffin eingebetteten Stücke (56° C Schmelzpunkt wird empfohlen!) werden dünn geschnitten (5 μ), nach der in § 145 angegebenen Methode (mit Eiweißglyzerin) auf dem Objektträger befestigt, von Paraffin befreit und durch Alkohol und Wasser in eine 1—5%ige wässerige Chromsäurelösung für 5—10 Minuten übergeführt. Nach kurzem Waschen in destilliertem Wasser (Sekunden! Die Schnitte dürfen ihre gelbe Farbe nicht verlieren) kommen die Schnitte auf 15—20 Minuten in die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylinlösung (1,0 Hämatoxylin, Alc. abs. 10,0, Aq. dest. 90,0, nach Lösung wird 1 ccm konz. wässerige Lithionkarbonatlösung hinzugefügt). Mit Wasser abgespülte Schnitte werden ca. 1 Minute mit konz. wässeriger Alaunlösung (etwa 10%), bis sie sich dunkelblau färben, behandelt, um wieder mit Wasser ausgewaschen zu werden. Jetzt wird 3—6 Minuten in Weigertscher Borax-Ferricyankaliumlösung (Borax 2,0, Ferricyankalium 2,5, dest. Wasser 100,0), die mit etwa der dreifachen Menge Wasser verdünnt wird, differenziert. Auswaschen in Wasser. Färbung, um die Kerne hervorzuheben, etwa mit Alaun-Karmin. Einschließen sofort in Kanadabalsam. Diese Kockelsche Methode färbt zwar nicht Fibrin ausschließlich, sondern auch (wie mitunter die Weigertsche) Muskel (glatte zeigen fibrilläre Streifung), Blutkörperchen, Gallenkapillaren etc.; dieser Umstand gibt aber zu keiner Verwechslung Veranlassung.

320. Man kann den Blutkreislauf an zahlreichen Objekten studieren. Die bequemsten sind die im Sommer so zahlreich zu habenden Kaulquappen der Frösche und Kröten (auch Tritonenlarven). Der dicke Körper und der Kopf solcher Quappen wird in mit Wasser getränktes Fließpapier eingewickelt, und das Tier so auf den Objektträger gelegt. Die Quappe bewegt sich zunächst lebhaft, fängt aber bald an, asphyktisch zu werden und beruhigt sich. In dünnen Membranen, z. B. auslaufenden Rändern und der Spitze des Schwanzes, kann man schon mit mittelstarker Vergrößerung den Blutkreislauf beobachten. Beim erwachsenen Frosch können zahlreiche Stellen für die Beobachtung des Blutkreislaufes zugänglich gemacht werden.

321. Um Frösche unbeweglich zu machen, pflegt man sie mit Curare zu vergiften. Dieses Gift wirkt bekanntlich auf die motorischen Endorgane der willkürlichen quergestreiften Muskulatur, nicht aber auf die des Herzens und der glatten Muskeln. Auch die sensiblen Bahnen bleiben frei. Wenn man einem Frosch eine geeignete Dose in den Lymphsack ein-

spritzt, so wird er nach einiger Zeit bewegungslos. Die Herzbewegungen aber, resp. der Blutkreislauf, dauern fort.

Da man bis jetzt nur mit dem Extrakt Kurare und nicht mit einer rein dargestellten chemischen Substanz arbeiten kann, so ist eine genaue Dosierung eine Unmöglichkeit. Von der sog. 1%igen wässerigen Lösung wende man etwa $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ g für einen Frosch mittlerer Größe an. Dasselbe wird in den Rückenlymphsack injiziert. Tritt der erwartete Erfolg nach einer Stunde nicht ein, so wiederhole man die Einspritzung. Eine zu starke Wirkung bei den angegebenen Dosen, die den Stillstand des Herzens herbeiruft, haben wir bisher nicht beobachtet.

322. An einem so kurarisierten Frosch kann man den Blutkreislauf, z. B. an den durchsichtigen Schwimm-Membranen, ohne weiteres beobachten. Um die Membran zu spannen, zieht man zwei Zehen auseinander und befestigt sie vermittelst zweier sog. Insekten- (Karlsbader-) Nadeln über eine in eine Korkplatte mit einem Locheisen gemachte Öffnung. Die Platte wird so groß gewählt, daß der Frosch auch darauf Platz hat. Man bringe die Öffnung der Korkplatte über die Öffnung der Tischplatte des Mikroskops und beobachte.

Die Stellen, an welchen man den Blutkreislauf beobachten kann, sind sehr zahlreich. Man kann, um beim Frosche zu bleiben, die aus dem Munde gezogene und mit Nadeln über eine mit Ausschnitt versehene Korkplatte gespannte Zunge dazu verwenden; auch das Mesenterium läßt sich durch einen in der Axillarlinie gemachten Einschnitt mit einer Darmschlinge aus der Bauchhöhle hervorziehen, siehe Cohnheim 67b); für die Lunge verfahre man nach Holmgren (74) (Holmgrensche Kammer).

Die Untersuchung des Blutkreislaufs an der Tritonlunge empfiehlt und gibt die erforderlichen Anweisungen hierzu Ewald (97), p. 248 ff.

Ferner kann der Blutkreislauf der Harnblase (Hällstén, 86) an den quergestreiften Muskeln usw. untersucht werden.

Schwanzpartien kleiner Fische und Fischembryonen, äußere Kiemen von Tritonenlarven und namentlich die so langen und üppigen äußeren Kiemen der Salamanderembryonen können, wenn gerade das Material hierzu vorhanden ist, verwertet werden. Auch Keimscheiben vom 2. oder 3. Tage der Vogelembryonen (Hühnchen, s. § 663) können zu demselben Zwecke gebraucht werden.

323. Man achte bei diesen Untersuchungen auf das Vorhandensein des axialen und Randstromes, auf das Pulsieren in den Arterien usw. Man sieht unter günstigen Umständen die Umkehr des Stromes in den Kapillaren. An den Bifurkationstellen der Kapillaren bleiben oft die Blutkörperchen hängen und werden ganz enorm (auf das zwei- bis dreifache

ihrer ursprünglichen Länge) gedehnt. Wird ein Blutkörperchen wieder frei, so nimmt es die ursprünglichen Dimensionen an (Elastizität).

An Mesenterien, aber auch in der Lunge, treten alsbald infolge der Vertrocknung, Temperaturschwankungen usw. Zustände auf, die als Anfänge der Entzündung aufgefaßt werden, und man sieht u. a. das Auswandern der weißen Blutkörperchen durch die Gefäßwände.

324. Der Blutkörperchen-Zählapparat von Thoma (Abbe, 78), zu beziehen durch C. Zeiß in Jena, besteht aus einer gläsernen Kapillarröhre, welche in ihrem oberen Drittel mit einer Ausbuchtung versehen ist, in der eine kleine Glaskugel liegt. Das vordere Ende des Röhrchens ist mit einer Teilung versehen, und zwar von 0,1, 0,5, 1, bis zur Marke 101. Weiter ist dem Apparate eine von Abbe und Zeiß konstruierte Zählkammer beigegeben. Dieselbe ist auf einem Objektträger aufgekittet, genau 0,1 mm tief. Der Boden derselben ist in mikroskopische Quadrate geteilt. Der Raum über jedem Quadrat beträgt $^1/_{4000}$ mm. Je 16 solcher Quadrate sind durch besonders starke Linien markiert. Ausführung der Bestimmung: Es wird Blut in die Kapillare bis zur Marke 0,5 oder 1 eingesaugt. Dann wischt man die Spitze des Kapillarröhrchens ab und saugt in die Kapillare 3% Kochsalzlösung bis zur Marke 101 ein. Dann wird die Flüssigkeit gut durchgemischt und die in der Kapillare befindliche Flüssigkeitssäule durch Lufteinblasen entfernt (die Kapillare wird nach dem Gebrauche mit Wasser, dann mit Alkohol, dann mit Äther gereinigt). Mit dem Blutkochsalzgemenge füllt man die Glaskammer des Objektträgers, legt das Deckglas darauf und untersucht, nachdem man das Präparat einige Minuten stehen ließ. Man zählt immer 16 Quadrate durch und zieht aus den erhaltenen Zahlen das Mittel. Die Berechnung der Zählungen geschieht folgendermaßen: War das Blut bis zur Marke 0,5 aufgesogen, so ist die Verdünnung 1:200; war Blut bis zur Marke 1 in der Kapillare, so ist die Mischung 1:100. Multipliziert man die in den gezählten Quadraten gefundene Anzahl von Blutzellen mit 4000 und je nach der Verdünnung noch mit 100 oder 200 und dividiert durch die Zahl der gezählten Quadrate, so erhält man die Anzahl der Blutzellen in 1 cmm Blut. Zieht man eine mit etwas Gentianaviolett gefärbte 3%ige Kochsalzlösung in Anwendung, so ist es leichter, die auf diese Weise blau gefärbten Leukozyten von den meist blaß-roten Blutzellen zu unterscheiden, also auch zu zählen.

Weitere Literatur für Kap. 3 siehe: Ehrlich (91), H. F. Müller (92), Engel (98) und Grawitz (02).

4. Kapitel.

Bindegewebe und Fett.

325. Man fange mit **parallelfaserigem Bindegewebe** an; am leichtesten findet man bequeme Objekte in den Sehnen des Schwanzes einer Maus oder Ratte. Wenn man ein paar Endwirbel des Schwanzes mit den Nägeln samt der Haut abzwickt und die Wirbel durch Ziehen entfernt, so folgen einige dünne, glänzende, lange Fäden nach, die Sehnen.

326. Ein Stückchen solcher Sehne wird mit einer scharfen Schere abgeschnitten und nach der Methode der Halbeintrocknung (Ranvier, 89) auf dem Objektträger gefasert, d. h. es wird mit möglichst wenig Flüssigkeit gezupft, wobei man jedoch sorgt, daß das Objekt während des Faserns nicht eintrockne, was man am besten dadurch bewerkstelligt, daß man während des Faserns den Objektträger anhaucht.

327. Solchen gefaserten Präparaten setze man etwas von einer z. B. 1%igen Essigsäurelösung zu; die Fasern, resp. die Fibrillen, quellen sehr stark auf und werden zuletzt so durchsichtig, daß sie kaum mehr zu sehen sind. Deutlich werden dann die Kerne der Sehnenkörperchen.

328. Kalilauge, namentlich in der Wärme, bringt diese Sehnenfasern und Fibrillen in Lösung.

329. Die die Fibrillen verklebende muzinartige Substanz löst sich in Kalk- und Barytwasser — eine für Bindegewebsfibrillen von Rollett (58) empfohlene Isolationsmethode. Mit Kalkwasser behandle man Sehnenfasern 6—8 Tage; mit Barytwasser 4—6 Stunden. Will man solche Präparate dauernd konservieren, so muß man vorher das Kalk-, resp. Barytwasser, vorsichtig neutralisieren. Im nekrotischen Gewebe zeigen die Fasern einen fibrillären Zerfall. (Ranvier, 89.)

330. In Schnitten bringe man **Bindegewebsfibrillen** nach der Methode von Hansen zur Darstellung.

Hansens Bindegewebsfärbung. Hansen (98a) fertigt eine Stammlösung:

100 ccm gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung,
5 ccm 2%ige Säurefuchsinlösung in Wasser.

(Diese Mischung kann längere Zeit aufbewahrt werden.)

Vor dem Gebrauche setzt man zu 30 ccm dieser Stammlösung 7 Tropfen 1%iger Essigsäure hinzu. Man färbt

20 Minuten bis 24 Stunden, tropft ab und bringt in Wasser, welchem man auf 30 ccm 20 Tropfen der zuletzt genannten angesäuerten Farbe zusetzt, für wenige Sekunden, entwässert möglichst rasch in 96%igem und absol. Alkohol, Xylol, dicker Kanadabalsam. — Bindegewebsfibrillen rot, alle anderen Bestandteile der Schnitte gelb. Vorfärbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig. Vgl. § 223 und 225.

331. Schaffer (99) verwendet zur elektiven Bindegewebsfärbung gesättigte, wässerige Pikrinsäure 100, Patent-Säurerubin 0,15, Eisessig 2 Tropfen. Vorbehandlung Sublimat oder Alkohol, Färbedauer 1 Minute bis Stunden, wenn nicht mittels Hämatoxylin-Tonerde vorgefärbt wurde; direkt in 95%igen Alkohol, darin gut ausschwenken.

Wo es sich um die Wahrnehmung dünnster Häutchen von der Fläche handelt, empfiehlt Schaffer (99) eine von Freeborn angegebene Pikro-Nigrosinfärbung. Die mit Wasser aufgeklebten Schnitte werden $^1/_2$ Stunde (Freeborn sagt 3 Minuten) oder länger in einem Gemische von gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung 90, 1%iger wässeriger Nigrosinlösung 10 gefärbt, ausgewaschen, entwässert und in Balsam eingeschlossen: Muskelfaser graugrün (Verdichtungs- und Kontraktionsknoten leuchtend gelb), Bindegewebe blauschwärzlich.

332. Mallory, (00) giebt eine, wenn gelungen, ausgezeichnete Bindegewebsfärbung an: in Sublimat oder Zenkerscher Flüssigkeit fixierte Objekte werden geschnitten und in folgender Weise gefärbt: 1. 3 Minuten in einer 0,1%igen Säurefuchsin-Lösung in destilliertem Wasser 2. Auswaschen in Wasser, 3. einige Minuten in 1%iger Phosphor-Molybdänsäure, 4. gut auswaschen in Wasser, 5. Färben in einer Lösung von Anilinblau 0,5, Orange G 2,0 Oxalsäure 2,0 in 100 Wasser 2 Minuten lang, 6. Auswaschen in Wasser, 7. Alkohol, 8. Xylol, 9. Kanadabalsam. Resultate: Bindegewebe und retikuläres Bindegewebe blau, Achsenzylinder, Neuroglia etc. rot. Man kann auch Säurefuchsin weglassen. NB. Säurefuchsin wird von Alkohol gar nicht, stark aber von Wasser angegriffen, umgekehrt verhält sich das Anilinblau.

333. Grobe Fasern des **elastischen** Gewebes verschafft man sich vom Ligamentum nuchae, z. B. eines Rindes. Das Fasern geht hier bei weitem nicht so leicht von statten; die isolierten Fasern krümmen sich eigentümlich (Bischofstabform).

334. Die Reagenzien, Essigsäure und Kalilauge wirken auf solche Fasern, in der eben angegebenen Weise angewandt, kaum; elastische Fasern sind sehr resistent,

namentlich der Kalilauge gegenüber. Diese letztere Eigenschaft kann man mit Vorteil benützen, um die feinen und feinsten elastischen Fasern zur Darstellung zu bringen. Man verfahre also: Eine dünne Lamelle, z. B. einer frischen Lunge entnommen, wird mit Kalilauge behandelt; nach einiger Zeit — ein paar Stunden — fangen Bindegewebe, Blut usw. sich zu lösen an, und es bleiben die feinsten Fäserchen, welche die Alveolen umspinnen, übrig.

Zum Nachweis der **elastischen Fasern** in Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens und der Methode mit angesäuertem Orzeïn.

335. Weigerts (98) Färbung elastischer Fasern gelingt nach allen üblichen Fixierungen, besonders nach Alkohol- und Formolfixation, aber auch nach Müllerscher und Flemmingscher Lösung und bei Zelloidin- und Paraffinschnitten. Man bereitet sich eine Lösung von 1% Fuchsin (Synonyma: Rubin [nicht Rubin S.!], Magentarot, Anilinrot) in 2%iger Resorzinlösung in Wasser. Von der Resorzin-Fuchsinlösung werden 200 ccm in einer Porzellanschale gekocht. Wenn richtiges Kochen eingetreten ist, setzt man 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati Ph. G. III zu und kocht dann unter Umrühren 2—5 Minuten. Man läßt nun abkühlen und filtriert. Der auf dem Filter bleibende Niederschlag wird mit dem Filter in die vorher benützte, getrocknete Porzellanschale gelegt, in welcher ebenfalls Niederschlag geblieben ist. Das Ganze wird unter stetem Umrühren nach Zusatz von 200 ccm 95%igem Alkohol gekocht, wobei das Filtrierpapier stückweise entfernt wird. Schließlich läßt man erkalten, filtriert und füllt das Filtrat mit Alkohol von 95% auf 200 ccm wieder auf. Nach Zusatz von 4 ccm Salzsäure ist die Farblösung fertig. Die Schnitte kommen auf etwa 20—60 Minuten hinein, werden im Alkohol (95%) abgewaschen und mit Xylol aufgehellt. Die Schnitte können auch länger (einige Stunden) in der Farbe bleiben, müssen aber dann unter Umständen in Alkohol-Salzsäure differenziert werden. Nach der Färbung erscheinen die elastischen Fasern dunkelblau, fast schwarz auf ganz hellem Grunde. Die Kerne sind bei kurzer Färbung nicht tingiert, sie können vor oder nach der Färbung durch Karmin gefärbt werden; hierbei kann Differenzierung in HCl-Alkohol angewandt werden. Bei der Behandlung des Fuchsins in der angegebenen Weise entsteht nach Weigert ein neuer Farbstoff, der in Wasser unlöslich, in Alkohol aber löslich ist.

336. Die Orzeïnmethode (Taenzer) nach Unna (91):

Orzeïn	0,1
95%iger Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0

wird zur Hälfte verdünnt (eventuell das Mischungsverhältnis ausprobieren, bei welchem in gegebenem Fall die elastischen Fasern sich gesättigt dunkelbraun von dem weit schwächer gefärbten übrigen Gewebe abheben) mit

Acid mur. . . .	0,1
95%iger Alkohol	20,0
Aqua dest. . . .	5,0;

darin färben 24 Stunden (am besten nicht aufgeklebte Schnitte), dann kurz (ca. $^1/_2$ Minute) differenzieren in angesäuertem, 95%igem Alkohol (eventuell Kernfärbung mit Hämatoxylin oder Methylenblau), absolutem Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

337. Das **areoläre** Gewebe wird am besten dem großen Netze, z. B. eines Kaninchens, entnommen und wie fibrilläres Bindegewebe behandelt. Es empfiehlt sich, kleinere Stücke des Netzes zu versilbern (siehe § 270) und alsdann mit Karmin (Pikrokarmin) zu färben. Dabei sieht man, wie die Endothelzellen dicke Maschen bildende Bindegewebsbündel bekleiden.

338. Das **retikuläre (adenoide)** Gewebe studiert man am besten in Lymphdrüsen und ähnlich gebauten Organen; siehe darüber in § 521 ff.

339. Um die Elemente der **Cutis** darzustellen, bedient man sich folgender Methode: Einem eben getöteten Hunde z. B. wird die Haut leicht abgehoben und eine Silbernitratlösung 1 pro mille subkutan (oder vielmehr subepidermoidal) eingespritzt. Es bildet sich dann eine kleine Ödemkugel, innerhalb welcher die Fasern etwas gedehnt und im gedehnten Zustande fixiert werden. Es wird ein einer solchen Ödemkugel mit einer krummen Schere entnommenes Fetzchen auf dem Objektträger gewaschen und unter der Lupe zerfasert, eventuell durch Zusatz eines Tropfens Pikrokarmin auf dem Objektträger gefärbt. Dabei isoliert man Bindegewebsbündel, elastische Fasern, gut fixierte Bindegewebszellen, eventuell Fettzellen. An den Bindegewebsfasern sieht man oft spiralig verlaufende, einschnürende Fasern, die sich anders verhalten wie die Bindegewebsfibrillen.

340. Ewald und Kühne (74) unterwerfen die folgenden Gewebe der **Trypsinverdauung**, z. B. mit einem schwach alkalischen Glyzerinpankreasextrakt, bei der Temperatur von 35° C.

1. Sehnen zerfallen in einzelne Faszikel oder in Fibrillen; von allen anderen Bestandteilen bleiben nur geschrumpfte Kerne erhalten, die leicht abfallen.
2. Alveoläres Bindegewebe des Mesenteriums verhält sich wie Sehne; Endothelien werden gelöst bis auf die Kerne.
3. Retikuläres Bindegewebe wird in vollkommener Reinheit dargestellt.
4. Hyaliner Knorpel. Die Zellen werden bis auf die Kerne gelöst, die Grundsubstanz stellt ein eigenartiges, etwas körniges Netzwerk dar, von dem Verhalten des Kollagens.
5. Elastischer Knorpel verhält sich wie hyaliner; die elastischen Fasern verschwinden.
6. Elastisches Gewebe wird gelöst.
7. Sogenannte strukturlose Membranen werden vollkommen gelöst.
8. Die Leber ist bis auf die Kerne und das Kollagen vollkommen verdaulich. Das fibrilläre Bindegewebe erstreckt sich bis zur Vena intralobularis.
9. Muskeln werden bis auf die bindegewebigen Bestandteile verdaut.
10. Von den Epithelien der Schleimhäute bleiben nur die Kerne zurück.
11. Bei Schnitten menschlicher Oberhaut fällt zuerst das Rete Malpighii heraus, dann werden Stachelzellen isoliert, hierauf zeigen sich die Zellen der Hornschicht wie hohl mit doppelter Kontur.

Das Trypsin ist also ein Mittel, um aus jedem tierischen Gewebe kollagene Fibrillen und Netze, Hornsubstanz und Kerne zu isolieren.

341. Neueren Untersuchungen von F. Mall (91 und 96) verdanken wir zahlreiche Angaben über das Verhalten des Bindegewebes gegen Reagenzien und greifen davon folgendes heraus:

Die elastischen Fasern bleiben in Essigsäure (auch beim Kochen in 20%iger) unverändert, sie werden nur brüchig; in konzentrierter Salzsäure gekocht, zerfällt die elastische Faser sehr rasch; in 10%iger bleibt sie bei gewöhnlicher Temperatur unverändert, in 50%iger löst sie sich in 7 Tagen, in konzentrierter schon am zweiten Tage; zuerst löst sich das Innere der Faser, dann die »Fasermembran«. Zur Darstellung der letzteren kocht man die elastischen Fasern ein paar Mal in konzentrierter Salzsäure auf und gießt das Ganze in kaltes Wasser aus. Manchmal sieht man an den Membranen eine longitudinale Strichelung, welche auf einen fibrillären Bau

hindeutet. Konzentrierte Kalilauge zerstört die Faser in wenigen Tagen, schwache Lösungen nur sehr langsam; eine 1%ige braucht dazu Monate, eine 2%ige einen Monat, eine 5%ige drei Tage, 10%ige einen Tag, 20—40%ige Stunden. Eine schwache Kalilauge löst, auch kochend angewandt, die elastischen Fasern nicht auf; sie werden darin auch nicht brüchig. In 5- oder 10%iger Kalilauge gekocht, isolieren sich die »Fasermembranen«, ebenso in 20%iger kalter Lösung in 1—2 Tagen. Durch Pepsin zerfällt der Inhalt der Faser, die »Membranen« bleiben übrig.

Trypsin löst die elastischen Fasern rasch auf, nicht aber das Sehnen- und das retikulierte Gewebe, welch letztere tagelang darin unverändert bleiben. Die Fäulnis zerstört das Lig. nuchae in wenigen Tagen; zuerst zerfällt das Innere der Faser, dann die »Fasermembranen«.

Um den Faserinhalt und die »Fasermembranen« zu demonstrieren, empfiehlt sich eine Färbung mit Magentarot (ein Körnchen Magentarot auf 50 g Glyzerin + 50 g Wasser). Der Inhalt färbt sich rot, die Faserscheide bleibt farblos.

Wird eine Sehne gekocht, so wird sie kürzer. Fixiert man die Sehne vor dem Kochen, so verkürzt sie sich nicht. Das adenoide Gewebe schrumpft beim Kochen, quillt nach kurzer Zeit und löst sich später auf. Sehnengewebe und adenoides Gewebe schrumpfen schon bei 72° C. Behandelt man sie aber eine kurze Zeit mit $^1/_2$%iger Osmiumsäure, so tritt die Schrumpfung erst bei 95° C ein. Sind das Retikulum oder die Sehne durch Erwärmung geschrumpft, so lassen sie sich sehr leicht mit Pankreatin (Trypsin) verdauen und werden durch Fäulnis sehr leicht zerstört.

In konzentrierter und in einer Essigsäure von unter $^1/_{20}$% quellen die Sehnenfasern nicht. In Säuren zwischen $^1/_2$ und 25% quellen sie hingegen auf; in 25%iger werden sie nach 24 Stunden gelöst. Ameisensäure in stärkster Verdünnung, $^1/_{500}$%ig z. B., bringt Sehnenfasern in kurzer Zeit zum Quellen. Zachariadés. In Salzsäure von 0,01% bis 6% quellen die Sehnenfasern auf. In einer 6- bis 25%igen Lösung bleiben sie eine Zeitlang ganz unverändert, und erst in konzentrierter Säure lösen sie sich. 10%ige Salpetersäure verändert das Volumen der Sehnenfaser kaum; $^1/_{50}$%ige wirkt am stärksten quellend. Zachariadés. Das retikulierte Gewebe quillt in Salzsäure bis 3%, bleibt unverändert zwischen 3—10% und löst sich nach 24 Stunden in 25%iger Säure und in höheren Konzentrationen derselben. Nach Behandlung mit verdünnter Säure löst sich beim Kochen die Sehne viel rascher auf als das retikuläre Gewebe.

Im natürlichen Magensaft des Hundes lösen sich die Sehnen nicht schneller als das elastische Gewebe auf; im künstlichen dagegen löst sich zuerst die Sehne, dann das retikulierte Gewebe, dann die elastische Faser auf (vgl. über fraktionierte

Verdauung, Spalteholz, 03). Pankreatin greift weder die Sehne, noch das retikulierte Gewebe an. Werden beide gekocht, so werden sie leicht in Pankreatin verdaut.

Die Fäulnis zerstört weder die Sehne, noch das Retikulum wenn sie der Leiche entnommen worden sind. In der Leiche, und namentlich bei höherer Temperatur (37°), zerfallen beide Gewebe in kurzer Zeit.

342. Höhl (97) empfiehlt, mit Wasser aufgeklebte Schnitte von fixierten Objekten zu verdauen. Nach Entfernung des Paraffins mit Xylol kommen die Objektträger in Alk. abs. und dann (da Pankreatin exakt nur bei vollständig entfettetem Präparat wirkt) in ein gut schließendes Gefäß mit Benzin 24—72 Stunden bei 37° C, dann in abs., 90, 70%igen Alkohol und dann 10—20 Minuten in fließendes Wasser, dann in die Verdauungsflüssigkeit. Darin bleiben sie bei 20—37° C 24—10 Stunden. Nach der Verdauung werden die Präparate in fließendem Wasser 10—20 Minuten vorsichtig ausgewaschen. Dann kommen die Objektträger zur Färbung in eine $^1/_2$%ige wässerige Lösung von Ferriammonium tartaricum für 1—24 Stunden, dann kurz in Wasser und 3—24 Stunden in eine $^1/_2$%ige wässerige (gereifte) Hämatoxylinlösung. Sind nach Abspülen des Farbstoffes die Bälkchen des Retikulum noch nicht tief schwarz, so kommt das Präparat noch auf 20—30 Minuten in die Eisensalzlösung (die jedes Mal frisch zubereitet werden muß) zurück.

343. Von außerordentlich großem Wert für die Verdauung zarter Schnitte ist die folgende Modifikation von C. M. Jackson: »Ich fand auch, daß es möglich ist, die Paraffinschnitte (5 μ bis 10 μ Dicke), mögen sie frei schwimmen oder auf dem Objektträger festgeklebt sein, erfolgreich zu verdauen, ohne das Paraffin vorher zu entfernen; nur muß man die Trypsinlösung etwas länger (1 bis 4 Tage) einwirken lassen. Die verdauten Schnitte werden (im Paraffin) mit Eisenhämatoxylin gefärbt (1 Tag im Eisenalaun, 1 Tag im Hämatoxylin). Dann kann man das Paraffin mit Xylol entfernen, oder man kann auch die Schnitte nach gründlicher Trocknung direkt in Balsam einschließen, ohne das Paraffin vorher aufzulösen. Der Vorteil dieser Methode besteht darin, daß selbst die zartesten Fasern, die sonst beim Waschen leicht verloren gehen, im Paraffin an ihrem Platze festgehalten werden. Allerdings sind die Präparate nicht so sauber wie die mit der gewöhnlichen Methode hergestellten, doch wird meiner Meinung nach dieser Nachteil

durch die Vorteile bedeutend überwogen.« Vgl. Spalteholz (03).

344. Man hat Gelegenheit genug, **Fettzellen** (Fett ist löslich in Äther, heißem Alkohol, Benzol und Chloroform) in frischem Zustande an überlebenden Gewebsstücken zu untersuchen, beispielsweise an den Mesenterien kleinerer Tiere in einer Schicht. Man trifft unter besonderen Umständen auch Margarinkristalle in Fettzellen an.

345. Das Fett ist so glänzend und die Fettzellen sind so groß, daß die feineren Strukturverhältnisse desselben am frischen Material unmöglich erkannt werden können. Um sich über den Bau einer Fettzelle zu orientieren, ist die im § 339 angegebene subepidermoidale Silbernitratlösung-Injektion zu empfehlen. An den Zupfpräparaten davon erhält man fast konstant isolierte Fettzellen, und diese zeigen einen deutlichen Fetttropfen, umgeben (im optischen Durchschnitt) von einem Protoplasmaring, der an einem Zellenpol sich verbreitert und den Kern der Fettzelle einschließt.

346. Behandelt man ganz frisch herausgenommene Fettstückchen 24 Stunden lang in einer $^1/_2$ bis 1%igen Osmiumsäure, so zeigen die Fettzellen eine schwarze Färbung infolge der Anwesenheit von Oleinfett, welches allein durch Osmiumsäure direkt geschwärzt wird, weil es Osmium reduziert; die übrigen reinen Fette, ohne Oleinfett als Beimischung, werden durch Osmiumsäure fixiert und nur gebräunt, in Alkohol aber erst nachträglich geschwärzt. Altmann (94). Starke. Die in Osmiumsäure fixierten Stücke eines Fettläppchens werden mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in Glyzerin (siehe § 159) übergeführt, das Deckgläschen wird umrandet, und so ein dauerndes Präparat angefertigt.

Um Fett mit Osmiumsäure nachzuweisen, übertrage man die mit Osmiumsäure behandelten Präparate nicht direkt in Alkohol, weil sie dadurch im ganzen geschwärzt werden. Am besten verfahre man so: Man behandle mit 1—2%iger Osmiumsäurelösung im Dunkeln, wasche mit destilliertem Wasser aus und übertrage allmählich in Alkohol, worin erst die intensive Färbung der Fettropfen zum Vorschein kommt.

Das mit Osmiumsäure, resp. Osmiumsäuregemischen, schwarz gewordene Fett löst sich in Terpentin, Xylol, Toluol, Äther und Kreosot, nicht aber in Nelkenöl, Bergamottöl und Chloroform. (Bergamottöl löst osmiertes Fett der Nebenniere, H. Rabl [91], aus der Gegend der Thymus und das Fett der Winterschlafdrüse, Schaffer [96]).

Die Löslichkeit des Fettes in mit Osmiumsäure allein behandelten Präparaten ist eine viel geringere als in mit Osmiumgemischen fixierten (Flemming, 89a und 89b). — Das mit Müllerscher Flüssigkeit behandelte Fett schwärzt sich mit Osmiumsäure ebenfalls. — Über Fettosmieren nach verschiedener Vorbehandlung auf Schnitten siehe Unna (98).

Fetthaltige Gewebsteile werden also zweckmäßig nicht durch Xylol etc., sondern durch Chloroform in Paraffin übergeführt, wenn man mit geschwärztem Fett gefüllte Zellen erhalten will.

Osmiertes Fett kann man entfärben, entosmieren, wenn man dasselbe mit nascierendem Chlor behandelt: die Objekte werden in ein mit Alkohol gefülltes Glas gebracht, auf dessen Boden schon vorher Kristalle von chlorsaurem Kali gelegt wurden. Man fügt dann Salzsäure (bis 1%) hinzu und hält das Gefäß dicht verschlossen. (P. Mayer, 81). (Vgl. auch über das Bleichen des Pigmentes.)

Vgl. auch die Färbung von Azoulay in § 499.

347. L. Daddi hat neuerdings Sudan III als Färbungsmittel für Fett empfohlen. Dasselbe kann in doppelter Weise angewandt werden: 1. entweder füttert man die Tiere mehrere Tage lang, wobei sich das ganze Fett rot färbt, oder 2. man färbt frische oder fixierte (in Medien, welche das Fett nicht lösen, z. B. in Müllerscher Flüssigkeit) Stücke und Schnitte. Es wird eine gesättigte alkoholische Sudanlösung angewendet, welche in 5—10 Minuten färbt. Man wäscht in Spiritus aus und schließt in Glyzerin ein. Unsere Versuche mit Sudan ergaben sehr befriedigende Resultate.

W. Rosenthal empfiehlt folgende Methode:

Etwa 5 mm dicke Scheiben werden in einem Gemisch von 5 ccm Formol und 100 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung 24 Stunden lang fixiert, kurze Zeit mit fließendem Wasser gewaschen und auf dem Gefriermikrotom möglichst dünn geschnitten. Die Schnitte werden im Wasser gewaschen, in 50%igen Spiritus auf kurze Zeit übertragen, um in Sudan III auf 10′ (höchstens 30′!) zu kommen (Sudan III-Lösung in 70—80%igem Alkohol); die im Sudan III gefärbten Schnitte werden flüchtig (Sekunden!) in 50%igem Alkohol gewaschen, in Wasser übertragen und in Glyzerin, resp. Glyzerin-Leim, eingeschlossen. — Eine Färbung, z. B. mit Hämatoxylin, ist zulässig.

Statt mit Formol-Pikrinsäuremischung kann man auch mit Formol allein fixieren und dann auf dem Gefriermikrotom schneiden. Sudan III färbt auch oleinfreies Neutralfett, was Osmiumsäure nicht tut. Lecithin und Myelin färben sich schwach rosa. Scharlach R. (Fettponceau) verhält sich dem Fett gegenüber wie Sudan III, d. h. wird in Fetten gelöst (Herxheimer).

348. Untersucht man frische Fettzellen, die mit einem Deckglase bedeckt sind, in Wasser oder indifferenter Flüssigkeit, so gewahrt man, daß einige oder viele Fettzellen (die Membranen derselben) zerplatzen und größere oder kleinere Fetttropfen frei werden und oft konfluieren. Man kann die Prozedur dadurch beschleunigen, daß man auf das Deckgläschen (etwa mit einer Nadel) drückt.

349. Die Fettablagerungen in der Zelle bestehen nicht aus gleichartigen Stoffen, sondern aus verschiedenen in der Peripherie und im Zentrum. Solger (93).

5. Kapitel.

Knorpel.

350. Der Knorpel kann an vielen Stellen, namentlich der hyaline, schon **frisch** untersucht werden. Man nimmt zu diesem Zweck entweder den knorpeligen Teil des Hypo- oder Episternums, oder aus der Skapula eines Frosches, oder auch des Processus xiphoideus kleiner Säuger. Solche dünne Knorpellamellen können, mit einem Stück Leinwand von Weichteilen gesäubert, in indifferenter Flüssigkeit (s. § 10 ff.) untersucht werden. Man kann auf diese Weise die Knorpelgrundsubstanz, die Kapseln und die Zellen darin, welche die Kapseln ganz ausfüllen, mit Leichtigkeit sehen.

351. Aber auch große Stücke Knorpel sind der Untersuchung frisch zugängig. Die Konsistenz des Knorpels ist nämlich eine derartige, daß man ohne weiteres mit einem mit indifferenter Flüssigkeit benetzten Rasiermesser dünne Schnitte anfertigen und in derselben Flüssigkeit sich ansehen kann.

352. Auf dieselbe Weise können frische Netzknorpelstücke mit dem Rasiermesser geschnitten (s. § 6) oder, wenn sehr dünn, wie die Ränder der Ohrmuschel einer Maus, nach der Entfernung der beiden Hautlamellen ungeschnitten untersucht werden.

353. Die hyalinen knorpelhaltigen Gewebsteile, welche mit Sublimat fixiert und nachträglich mit Safranin tingiert

wurden, zeigen eine prägnante Orangefärbung der Knorpelgrundsubstanz. Hämatoxylin färbt dieselbe blau, auch Dahlia (§ 306) und Bismarckbraun färbt sie.

354. Hansen (98b) beschreibt im hyalinen Knorpel der Wirbeltiere feine Bindegewebsfibrillen in der hyalinen Grundsubstanz. Die durch Anwesenheit von Chondroitinschwefelsäure bedingte Basophilie maskiert die Fibrillen. Entfernt man die Chondroitinschwefelsäure aus einem unfixierten oder besser fixierten Knorpelschnitte durch sehr vorsichtige Behandlung mit Alkalien, so läßt sich mit Hansens Bindegewebsfärbung (s. § 330) alles Kollagen (Bindegewebsfibrillen) im Knorpel färben; es wird demaskiert.

Von Weichteilen gesäuberte hyaline Knorpelscheiben, z. B. von der Patella oder den Kondylen entnommen, lasse man 3—7 Tage in einer mittelstarken Lösung von Kalium hypermanganicum oder in einer 10%igen Kochsalzlösung mazerieren. Die erstere wechsle man 4—6 mal täglich. Die hyaline Grundsubstanz zerfällt dann in sehr feine Fibrillen, welche den Bindegewebsfibrillen gleichen (Tillmanns).

355. Knorpel der Kephalopoden zeigt verzweigte Knorpelzellen, welche miteinander anastomosieren.

356. Um Netzknorpel zu untersuchen (Ohrmuschel, Epiglottis etc.), fertige man sich, nachdem man ihn mit Alkohol fixiert hat, dünne Schnitte, welche nun beliebig gefärbt werden können, z. B. Borax-Karmin, Safranin etc.

An solchen Präparaten aber, namentlich in Kanadabalsam, sieht man die feinen und dichten elastischen Netze kaum. Um diese darzustellen, kann man die Schnitte aus dem Wasser in eine sehr dünne Jodlösung einlegen, welche in kurzer Zeit die elastischen Netze braun färbt.

Bei dem Jodzusatz achte man auf das Vorhandensein des Glykogens in den Knorpelzellen (es kommt auch im hyalinen Knorpel vor), welches mahagonibraun erscheint (vgl. § 161). Diese Farbe schwindet beim Erwärmen.

357. Will man Dauerpräparate anfertigen, so tingiere man dünne Netzknorpelschnitte nach dem Weigertschen Verfahren (siehe § 335) oder nach der Orzeïnmethode (siehe § 336).

Mit Pikrokarmin färben sich elastische Netze gelb, die Kerne der Knorpelzellen rot.

358. Tingiert man dünne Schnitte mit einer wässerigen Säurefuchsinlösung, wäscht dieselben längere Zeit in Alkohol aus und überträgt sie nach den allgemeinen Regeln in Kanadabalsam, so erscheinen die Netze intensiv rot, das übrige, außer den Kernen, farblos.

359. Knorpel bei älteren Individuen, namentlich Rippenknorpel, aber auch Larynxknorpel etc., zeigen Kalkeinlagerungen und müssen daher, nachdem sie fixiert worden sind, entkalkt werden (s. § 364 ff.).

360. Rippenknorpel des Erwachsenen und embryonale Knorpel bieten häufig Material für das Studium von mehreren Tochterknorpelzellen in einer Kapsel.

361. Die knorpelhaltigen Organe lassen sich nicht gut mit Eiweiß auf dem Objektträger, namentlich wenn die Schnitte etwas dick sind, aufkleben, weil sie sich beim Erhitzen werfen.

362. Der bindegewebige Knorpel wird aus der Zwischenwirbelscheibe etc. entnommen und entweder mit Osmiumsäure, oder noch besser, mit Pikrinsäure fixiert und mit Pikrokarmin oder nach Hansens Methode (siehe § 330) gefärbt.

363. Um embryonale Knorpelskeletteile als Übersichtsbilder zu montieren, verfährt Lundvall, wie folgt: a) Fixierung in 10%igem Formol, 48 Stunden und darüber, b) Behandlung mit 95%igem Spiritus, ebenso lange, c) Färbung in Toluidinblau bei 40° C (man löse 0,25 g Toluidin in 100 ccm einer ½%igen Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol, füge nach erfolgter Lösung noch 0,5 ccm Salzsäure hinzu und filtriere noch 24 Stunden), d) Entfärbung in 0,25%iger oft zu wechselnder Salzsäure in 70%igem Spiritus bei 40° C, e) Entsäuern in oft zu wechselndem 95%igem Alkohol, f) Abs. Alk. etc. Statt Xylol nehme man für diesen Zweck Benzol.

Literatur zu Kap. 5: Flesch (80).

6. Kapitel.

Knochen und Zähne.

364. In der organischen Grundmasse des Knochens sind verschiedene anorganische Substanzen und namentlich Kalksalze enthalten, welche dem ganzen Knochen die Festigkeit verleihen. Will man den Knochen schnittfähig machen, so muß man diese Kalksalze entfernen, entkalken. Man behandelt zu diesem Zweck den Knochen,

auch Zähne mit Säuren, welche an Stelle der Säuren der Kalksalze im Knochen treten. Unter Freiwerden dieser Säuren entstehen neue Verbindungen, die aber in Wasser, resp. Spiritus, löslich sind. Auf diesem Prinzip beruht die Entkalkung.

365. Unter den **Entkalkungsflüssigkeiten** steht nach P. Ziegler (99) an erster Stelle die schweflige Säure, deren Wirkung darauf beruht, daß das unlösliche Trikalziumphosphat, das neben dem kohlensauren Kalk die Hauptmasse der anorganischen Bestandteile des Knochens darstellt, unter dem Einflusse der schwefligen Säure in Monokalziumphosphat, welches leicht löslich ist, umgewandelt wird.

Nachdem bei kleineren Knochen eine beliebige Fixation vorausgegangen ist, — bei größeren Knochen, da die gewöhnlichen Fixierungsmittel nicht rasch genug in die Tiefe eindringen, fixiere man am zweckmäßigsten mit Formol, — verbringt sie P. Ziegler auf kürzere oder längere Zeit in die gesättigte wässerige schweflige Säure mit ca. 5% Säuregehalt. (Es wird dann ebenso lange mit fließendem Wasser gewaschen, in allmählich steigendem Alkohol nachbehandelt und in Zelloidin geschnitten.)

Dieselbe entkalkt den Humerus eines ausgewachsenen Meerschweinchens in 1—2 Tagen und erhält dabei die Struktur der Weichteile, wie keines der im folgenden erwähnten Verfahren; die Entkalkung erfolgt vollständig gleichmäßig, und die Färbbarkeit mit allen Farben ist eine vorzügliche. Tritonenextremitäten bleiben nur 2—3 Stunden in der Säure, größere menschliche Knochen 8 Tage. — Kleinere, passend fixierte und nicht länger wie 2—5 Stunden entkalkte Knochen zeigen in ihren Weichteilen die feinsten Zellstrukturen gut erhalten.

Von weiteren Entkalkungsflüssigkeiten (siehe Haug, 91a, und Schaffer, 03) nennen wir folgende:

366. Salzsäure $^1/_2$—1%, die oft zu wechseln ist; sie wird auf vorher fixierte Objekte angewendet.

367. Eine 1%ige Salzsäurelösung zu gleichen Teilen mit einer 1%igen Chromsäurelösung.

368. Für kleinere Objekte: konzentrierte Pikrinsäurelösung und Pikrinsalpetersäure, nicht aber Pikrinschwefelsäure wegen der Entstehung des schwerlöslichen Gipses.

369. Salpetersäure (gemeint ist Acidum nitricum crudum mit 61% Säuregehalt und von 1,40 spezifischem Gewicht); die 2—15%ige Säure ist die rascheste und schonendste Entkalkungsflüssigkeit; nach der Entkalkung behandelt man die Stücke mit 5% Alaunlösung und wäscht dann mit Wasser aus. Schaffer (03). Auch alkoholische Lösungen, gewöhnlich in 70% Spiritus, werden gebraucht; in ihnen können auch in Zelloidin eingebettete Stücke entkalkt werden. Schaffer (03).

370. Salzsäure darf wohl nie auf ganz frische Objekte angewandt werden, sondern nur auf vorher fixierte; aber auch diese, wenn sie groß sind und längere Zeit in der Entkalkungsflüssigkeit liegen, verändern sich sehr stark. Besser entkalkend und fixierend zugleich wirkt Salzsäure-Chromsäure-Gemisch. Gute Resultate erzielt man mit Pikrin- und Pikrinsalpetersäure, aber diese Flüssigkeiten dringen nur sehr wenig in die Tiefe, und die Entkalkung geht außerordentlich langsam von statten. Die Salpetersäure (namentlich schwächere Lösungen derselben auf kleinere Objekte angewandt, die vorher gut fixiert waren) liefert ebenfalls sehr Gutes. Statt des Wassers wird Kochsalzlösung empfohlen, durch welche die quellende Wirkung der Säuren aufgehoben wird (s. § 371). Bei allen diesen Flüssigkeiten gilt die Regel, möglichst viel Flüssigkeit zu nehmen und dieselbe möglichst oft zu wechseln.

Die Zeit der Entkalkung richtet sich nach der angewandten Flüssigkeit, Konzentration derselben, Temperatur usw., dauert aber immerhin ziemlich geraume Zeit, mitunter wochenlang. Der Knochen ist dann entkalkt, wenn er so weich geworden ist, daß man ihn schneiden kann. Dies muß man durch Probieren feststellen, indem man versucht, Schnitte darzustellen oder mit einer feinen Nadel in den Knochen einzustechen.

Die in einer dieser vier Flüssigkeiten entkalkten Stücke werden längere Zeit ausgewaschen, 24 Stunden und darüber, bis sie die Farben, resp. die Säuren, vollkommen dem Wasser abgegeben haben, und kommen dann, wie die fixierten Stücke, in Spiritus von allmählich steigender Konzentration.

371. Alle diese Flüssigkeiten bringen die Grundsubstanz des Knochens zum Quellen, und so kommen die meisten Primitivröhrchen zum Verschluß; die feinere Struktur der Grundsubstanz und namentlich die der Lamellen geht eben-

falls verloren. Um auch diese zu erhalten, hat v. Ebner (75) eine wässerige Kochsalz-Salzsäurelösung vorgeschlagen, die folgendermaßen zusammengesetzt ist:

Eine kaltgesättigte Kochsalzlösung wird mit zwei Volumina Wasser verdünnt und 2% Salzsäure (für Zähne 10 bis 20%) zugesetzt. Während die zu entkalkenden Knochen in dieser Flüssigkeit verweilen, wird täglich etwas Salzsäure zugesetzt, bis die Knochen biegsam geworden sind. Sie werden dann mit zur Hälfte gesättigter wässeriger Kochsalzlösung gewaschen. Diese nimmt bald saure Reaktion an, welche durch allmähliches spurweises Zusetzen von Salmiakgeist nach und nach gehoben wird, und zwar so lange, bis der Knochen neutral geworden ist. Der Knochen kann geschnitten werden. Diese Flüssigkeit entkalkt sehr langsam, liefert aber gute Resultate. Es empfiehlt sich, die gut gewässerten dünnen Schnitte mit Gentianaviolett (§ 318) zu färben; statt der dort angegebenen Entfärbungsflüssigkeit nehme man 2 Teile Anilinöl auf 3 Teile Xylol (Beneke). Die Grundsubstanzfibrillen von v. Ebner und die Sharpeyschen Fasern färben sich dabei.

372. Für sehr zarte Objekte, also kleine embryonale Knochen oder für Felsenbeine ganz kleiner Tiere kann man sich auch der Flemmingschen Lösung bedienen und läßt diese 1—2 Tage und länger einwirken.

373. Für sehr kleine Objekte, die sehr wenig Kalk enthalten, genügt aber schon der Aufenthalt derselben in einer schwachen Chromsäure, wie sie zum Fixieren gebraucht wird, resp. in der Müllerschen Lösung, welche auch etwas freie Chromsäure zu enthalten pflegt.

374. Man gewöhne sich, die Entkalkung erst an fixierten Stücken vorzunehmen; wenn auch die Zeit, die zur Entkalkung solcher notwendig ist, eine viel längere ist, so werden doch die Weichteile viel besser geschont.

375. In den Angaben über Phlorogluzin (Haug, 91 b) folgen wir v. Kahlden (95). Das Phlorogluzin wirkt nicht selbst entkalkend, schützt vielmehr die Gewebe vor der gleichzeitig anzuwendenden Säure; man kann daher letztere in so starker Konzentration einwirken lassen, daß die Entkalkung bei kleinen Knochen nach einer halben Stunde, bei härterem Knochenmaterial nach wenigen Stunden vollendet ist. Das Präparat ist deshalb während der Anwendung der Methode fortwährend zu kontrollieren. — Herstellung der Lösung: Phlorogluzin 1,0 wird in reiner, nichtrauchender Salpetersäure 10,0 unter vorsichtigem Erwärmen gelöst, am

besten unter dem Abzug des chemischen Herdes, da bei der Mischung unter stürmischer Entwicklung braunroter Dämpfe von salpetriger Säure eine bedeutende Wärmeentwicklung eintritt. Zu dieser (rubinroten) Stammlösung werden hinzugesetzt 10 %ige wässerige Salpetersäurelösung 100 ccm.

Eine etwas langsamer wirkende Entkalkungsflüssigkeit ist die folgende:

Phlorogluzin	1,0
Acid. nitric.	5,0
Alkohol	70,0
Aqua dest.	30,0.

376. Als eine schonend entkalkende Flüssigkeit, auch auf bereits fixierte Objekte anzuwenden, empfiehlt Thoma (91) Alkohol-Salpetersäure (abs. Alkohol 5 Vol., Acid. nitr. konzentr. [Sp. G. 1,3] 1 Vol.). Diese Flüssigkeit ist täglich zu wechseln und entkalkt in wenigen Tagen. Ausgewaschen wird in 95 %igem Spiritus mit Zusatz von präzipitiertem kohlensaurem Kalk im Überschuß. Nach 8—14 Tagen verlieren die Präparate jede Spur der Säure und werden, um Kalk zu entfernen, mit reinem 95 %igem Spiritus gewaschen. Vgl. § 369.

377. Der so vorbereitete und ausgewaschene Zahn, resp. Knochen, läßt sich, mit Zelloidin (siehe § 87) durchtränkt, schneiden. Man kann sehr gut entkalkte und kleine Knochen auch in Paraffin einbetten und schneiden, aber nur dann, wenn man möglichst weiche Paraffinsorten gebraucht.

378. Schmorl verdanken wir zwei elegante Methoden, um Knochenhöhlensysteme und deren Grenzscheiden darzustellen.

A. Man fixiert Knochenstücke beliebig, nur nicht in sublimathaltigen Flüssigkeiten, entkalkt sie, schneidet in Zelloidin und färbt entweder in Karbol-Thionin nach Nicolle, (Karbolwasser 100 und 10 ccm einer gesättigten Thioninlösung in 50 % Alkohol) oder mit konzentrierter Thioninlösung in 50 % Alkohol 10 Minuten lang; die Schnitte spült man in Wasser ab und überträgt sie auf 1 Minute in eine gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung; dann werden die Schnitte wieder mit Wasser gespült und mit 70 % Spiritus gewaschen, bis keine Farbwolken abgehen (5—10 Minuten); man entwässert sie dann in 96 % Alkohol, hellt mit Karbolxylol auf und schließt in Kanadabalsam ein. — Wenn die Färbung nicht recht gelingen will, setzt man zu der Farbe 1—2 Tropfen Ammoniakflüssigkeit. Resultate: Knochenhöhlen dunkelbraun auf hellbraunem Grunde, die Zellen rot. — Dieselbe Methode gilt auch für Zähne.

B. Man fixiert dünne Knochenscheiben in Formol, härtet sie dann 5—8 Wochen in Müllerscher Flüssigkeit und entkalkt nach v. Ebner. Man macht Zelloidin- oder Paraffinschnitte, färbt in oben angegebener Thioninlösung mit Zusatz von Ammoniak, spült gut mit dest. Wasser ab und differenziert mit konzentrierter Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure kurze Zeit. (Die Säuren greifen Metalle an, Glasinstrumente!); die Schnitte wäscht man nun aus bis sie hellblau werden, 10 Minuten, und fixiert in Salmiakgeist, 1 zu 10 Wasser, 3—5 Minuten lang und überträgt direkt in 90% Alkohol, welchen man wechselt; durch absoluten Alkohol und Karbolxylol kommen sie in Kanadabalsam. Ist die Grundsubstanz zu dunkel geraten, schiebt man vor dem absoluten Alkohol 1%igen salzsauren Spiritus 5 Minuten ein. Die Methode gelingt nicht immer und paßt überhaupt nur für noch wachsende Knochen. Resultate: Grundsubstanz hellblau, Grenzscheiden schwarzblau.

379. Will man die **Weichteile** für sich allein untersuchen, so kann man durch geeignetes Sprengen des Zahns, resp. der Diaphyse des Knochens, welches bei einer gewissen Spannung im Schraubstock plötzlich und ohne Splittern zu erfolgen pflegt, große Stücke der Pulpa, resp. des Marks, intakt herausnehmen, oder man spalte mit Hammer und Meißel, wobei man die Weichteile weniger leicht lädiert. Falls diese keine Hartteile, sekundäre Dentinbälkchen, resp. spongiöse Bälkchen der nicht ganz resorbierten endochondralen Diaphyse enthalten, können sie ohne weiteres fixiert und nach den allgemeinen Regeln weiter behandelt werden; sonst müssen sie auch noch entkalkt werden.

380. Die Elemente des Knochenmarkes können auch an auf Deckgläschen ausgebreiteten und fixierten Präparaten (s. § 297 ff.) untersucht werden.

381. Will man die Hart- und Weichteile im Zusammenhange untersuchen, ohne die Entkalkung vorher vorzunehmen, so bediene man sich der von v. Koch (78) mit großem Erfolge bei seinen Korallenuntersuchungen angewandten Versteinerungsmethode. Diese wurde von Weil für die Herstellung der Zahnschliffe mit Erhaltung der Weichteile angewandt. Zähne oder Knochen werden, nachdem durch geeignetes Absprengen der Hartteile der Zugang zu den Weichteilen gesichert ist, fixiert und nach den allgemeinen Regeln bis zur eventuellen Stückfärbung inkl. behandelt. Dann werden sie durch absoluten Alkohol und Terpentinöl, resp. Chloroform,

in eine Mischung von Kanadabalsam und Terpentinöl, resp. Chloroform, übertragen. Durch allmähliches Verdunsten des Choroforms, resp. Eindicken des Terpentinöls, zumal bei einer höheren Temperatur, was unter Umständen mehrere Wochen in Anspruch nimmt, werden der den Zahn imprägnierende Kanadabalsam und die Umgebung steinhart. Röse (92) empfiehlt, die Präparate im Wärmofen bei 50° C trocknen zu lassen, wozu etwa 3—4 Monate nötig sind. Man kann, ohne Schrumpfung befürchten zu müssen, am Schlusse etwas rascher eindampfen, nur muß man bei Beginn des Eindampfens möglichst geringe Temperaturgrade wählen. Dann kann das Ganze nach denselben Regeln geschliffen werden wie die Hartgebilde allein.

382. Will man die **Hartgebilde allein** untersuchen, so wähle man ganz dünne Knochenlamellen: Nasenmuscheln und Siebbeinzellenwände usw. kleinerer Tiere liefern solche, die man ohne weiteres, wenigstens bei schwacher Vergrößerung, nachdem man Periost etc. abgeschabt hat, untersuchen kaun. Oder man bereite sich mit einem scharfen Knorpelmesser von einem dickeren Knochen eine genügend transparente Lamelle, die ebenfalls ohne weiteres untersucht werden kann.

383. Befreit man dünne Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Fische durch Schaben mit einem Skalpell vom umgebenden Bindegewebe und legt dieselben eine Stunde in absoluten Alkohol, so füllen sich die Knochenkörperchen nach Ewald (97) mit Luft (Gas) und können dann durch Nelkenöl in Kanadabalsam (auch den gewöhnlichen Xylol-Kanadabalsam) übertragen werden.

384. Will man aber ausgedehntere Territorien, einen dickeren Knochen studieren und namentlich die Verbreitung der Hohlräume im Zahn und Knochen zur Darstellung bringen, so stelle man **Schliffe** her, indem man folgendermaßen verfährt: Man wähle alte, gut mazerierte und möglichst fettarme Knochen. Aus den Hohlräumen dieser Knochen ist durch die kombinierte Wirkung der Fäulnis und Austrocknung fast die ganze organische Substanz entfernt und die kleinsten Hohlräume im Knochen, auch Primitivröhrchen, sind mit Luft gefüllt. In gewöhnlicher Weise mazerierte Knochen sind nicht geeignet, vielmehr wähle man verweste, im Lauf der Jahre vom Regen ausgewaschene alte Knochen, wie man sie in Abdeckereien etc. findet.

In neueren Mazerationskammern der Anatomien sollen die Knochen so vollkommen entfettet werden, daß sie nach dem

Trockenwerden ohne weiteres für diese Zwecke ebenfalls benutzt werden können.

Man bereite sich durch zwei parallele Schnitte, vermittelst einer Laubsäge z. B., eine dünne Lamelle, die man einer Region im Knochen entnimmt, welche man gerade studieren will; man beginnt mit Quer- und Längsschliffen. Auf einem harten und planen Schleifstein oder zwischen zwei solchen werden die Flächen möglichst eben gemacht. Die eine Fläche wird auf einer matten Glasplatte poliert. Der Knochen wird gewaschen und getrocknet und die fertig polierte Fläche auf eine dicke, mit abgeschliffenen Rändern versehene Glasplatte mit Kanadabalsam, § 157, befestigt, welche sich leichter mit der Hand fassen läßt, als der dünne Schliff allein. Es geschieht dies, indem man auf der Glasplatte ein Stück festen Kanadabalsams (Grübler) durch Erwärmen über der Flamme flüssig macht. Dann legt man den Schliff auf und achtet darauf, daß zwischen Schliff und Glasplatte keine Luftblasen verbleiben. Nun kann die andere Fläche auf einem Schleifstein geschliffen werden, bis die Lamelle eine sehr dünne wird.

Ist das Knochenstück nicht genügend auf der Glasplatte mit Kanadabalsam befestigt gewesen, was man an den glänzenden Luftblasen zwischen dem Schliff und der Glasplatte erkennt, so pflegt der Schliff gerade zu der Zeit, wenn er anfängt, brauchbar zu werden, zu zerbrechen.

Man kann sich auch in der Weise den Schliff anfertigen, daß man ihn, ihn auf eine Schleifsteinplatte einfach mit dem Finger oder mit einem Stückchen Kork andrückend, von der einen und dann von der anderen Seite abreibt, bis er genügend dünn, durchscheinend wird. Diese Methode ist keine sichere, und namentlich der Anfänger mache sich auf viel Materialverlust gefaßt. Die Methoden des Schleifens sind namentlich von den Mineralogen ausgebildet worden, und man kann, wie gesagt, auch sehr harte Gebilde, Minerale, Gehäuse von Mollusken etc., nach ihnen schleifen, nur daß man, je nach der Härte, entweder härtere Steine, Schmirgel oder gar Demantpulver anwendet.

Große, gleichmäßig dünne Schliffe ohne Sprünge und Spalten wird man ohne maschinelle Vorrichtungen (rotierende Steine der Mineralogen etc.) nur mit der größten Übung erzielen können.

385. Der Schliff kann, nachdem er auf einer Glasplatte poliert worden ist, gleich in Kanadabalsam eingeschlossen werden, indem man die Glasplatte als Objekt-

träger benutzt; dieses führt aber im allgemeinen zu keinem Ziele, da die Hohlräume durch den darin enthaltenen Kanadabalsam, welcher annähernd ebenso Licht bricht wie die hell gewordene Grundsubstanz des Knochens, unsichtbar werden. Man löst daher besser die nun sehr vorsichtig zu behandelnde zarte Knochenlamelle mit Chloroform von der Glasplatte ab. Man entfettet den Schliff mit Äther oder Xylol, wäscht mit abs. Alkohol, trocknet ihn und betrachtet denselben etwa im Wasser; man sieht in der ersten Zeit außerordentlich deutliche, schwarz gefärbte, mit Luft gefüllte Knochenkörperchen und Primitivröhrchen, und es tritt allmählich und sehr langsam Wasser an Stelle der austretenden Luft ein. Auf dieser Tatsache beruht nun die folgende einfache Darstellung der Primitivröhrchen und Knochenkörperchen.

386. Einschluß des lufthaltigen Schliffes. Man erwärme ein Stückchen festen (durch Grübler zu beziehen) Kanadabalsams auf dem Objektträger, bis es flüssig wird, und nehme entstehende Luftblasen mit einer heißen Nadel weg. Nun lege man den vorher lufttrocken gemachten, weißgewordenen Schliff auf den flüssigen Kanadabalsam und bedecke rasch mit einem erwärmten Deckgläschen. Dabei hat man darauf zu achten, daß besonders auch der Raum zwischen Schliff und Deckgläschen mit Kanadabalsam gefüllt wird, was man eventuell durch Drücken mit der Nadel auf das Deckglas oder Nachwärmen erreichen kann. Der Kanadabalsam erstarrt in der kürzesten Zeit, und es bleibt die Luft in den Knochenräumen gefangen. Die Prozedur gelingt nur, wenn man rasch arbeitet. Man hat also ein Dauerpräparat von Knochenkörperchen und Röhrchen gewonnen.

387. Auch an den Schnitten durch entkalkte Knochen gewinnt man durch Eintrocknen, aber nur an kleinen Bezirken mit Luft gefüllte Primitivröhrchen und Knochenkörperchen, die man auf dieselbe Weise dauernd einschließen kann. Flemming (86).

388. Man kann bei Schliffen anstatt der Luft einen geeigneten Farbstoff substituieren, so **Anilinblau** (Ranvier [75], löslich in Alkohol und unlöslich in Wasser, oder einen anderen, z. B. Methylviolett oder Fuchsin (basisch). — Man verfährt dabei folgendermaßen: Man nimmt eine alkoholische konzentrierte Lösung von Anilinblau, am besten in einem kleinen ca. 15 g fassenden Abdampfschälchen,

legt den lufttrockenen Schliff hinein und erwärmt das Ganze langsam, bis der Alkohol verdunstet ist. Bei diesem Erwärmen entweicht in der Regel die ganze Luft, und es werden die Räume im Schliffe mit dem feinen Anilinblaupulver gefüllt. Da aber die Flächen des Schliffes bei dieser Prozedur mit Niederschlägen verunreinigt werden, so entferne man diese mit Messer, Pinzette und Pinsel, soweit es geht, und schließlich durch Polieren auf einer Glastafel, die mit einer 2- bis 3 %igen Kochsalzlösung, welche Anilinblau nicht löst, benetzt wird. Man spüle den Schliff in derselben Kochsalzlösung ab und schließe definitiv ein in Glyzerin-Kochsalz; oder, nachdem der Schliff ganz flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült worden ist, um Kochsalz zu entfernen, wird er schnell getrocknet und nach der vorhin erwähnten Methode in harten Kanadabalsam eingeschlossen. Diese Methode gelingt nur an gut mazerierten Knochen (s. § 384). Vorsicht ist notwendig beim Erhitzen der Farbe; entzündet sich dieselbe, so bedecke man die Abdampfschale bis zum Erlöschen der Flamme mit einem bereit gehaltenen flachen Deckel und fahre dann mit dem Abdampfen fort.

Das gewöhnliche Überführen in flüssigen Kanadabalsam ist in diesem Falle deshalb nicht zulässig, weil Anilinblau durch Alkohol, ätherische Öle etc. gelöst, resp. angegriffen wird.

389. Ganz dieselben Methoden können ohne weiteres auf die **Zähne** (s. v. Ebner [91]) übertragen werden, wobei die Dentinröhrchen mit Luft, resp. Farbe, gefüllt werden. Schleifen mazerierter Zähne, Kochsche Versteinerungsmethode [s. § 381].

Die Struktur der Zähne kann auch an Schnitten untersucht werden. Selbstverständlich müssen hierzu die Zähne entkalkt sein. Man wendet dieselben Methoden wie beim Knochen an. Salzsäure, verdünnte Chromsäure und Pikrinsäure lösen jedoch die Schmelzprismen auf, wobei die Kittsubstanz der letzteren zuerst in Lösung tritt (von Ebner).

Schmelz junger Zähne färbt sich in Chromsäure und deren Salzen braun, in Osmiumsäure schwarz; schon in den Schmelzzellen (Adamantoblasten) sieht man Tropfen, welche Färbung mit Osmiumsäure annehmen (Graf Spee, 87). Ätzt man Längsschliffe durch den Schmelz mit Salzsäure, so tritt die Kreuzung seiner Prismen deutlich hervor (Retziussche Linien).

Um die Fribillen des Dentins zu sehen, entkalke man einen Zahn in der von v. Ebner empfohlenen Flüssigkeit (siehe § 371); Zähne jugendlicher Individuen sind hierzu besonders geeignet. Auch kariöse Zähne liefern mitunter sehr deutliche Bilder. Ätzen der Schliffe mit Salzsäure führt ebenfalls zum Ziele.

Das Zement, und namentlich das zellenarme, enthält eine große Zahl von Sharpeyschen Fasern.

Die Entwickelung der Zähne studiere man an Embryonen, deren Kiefer man fixiert, entkalkt und in Serienschnitte zerlegt. Am bequemsten verschafft man sich Schafembryonen, welche in Schlachthäusern fast immer zu haben sind.

390. Kleine frische Knochen oder Zähne oder mit der Säge dargestellte Plättchen solcher, die nicht über $^3/_4$ mm dick sein dürfen, kommen in ein Gemisch von 1 %iger Goldchloridlösung und reiner Ameisensäure (2 Vol. zu 1 Vol.) auf 24 Stunden, werden mit destilliertem Wasser kurze Zeit gewaschen und in eine Lösung von Gummi arab. in Glyzerin auf 24 Stunden übertragen. Nach abermaligem Waschen mit destilliertem Wasser und Überführung in Alkohol kann mit Zelloidin oder Paraffin durchtränkt und geschnitten werden usw. Die Schnitte zeigen exakt dunkelviolett gefärbte Primitivröhrchen resp. Dentinröhrchen, in heller Grundsubstanz (Lepkowsky, 92).

391. An den mit Anilinblau behandelten Knochenschliffen sieht man, namentlich an Querschliffen, farblose, scharf begrenzte Kreise. Es sind **Sharpeysche** Fasern (Ranvier). Vgl. § 371.

392. Feine Knochenschliffe können im rotglühenden Platintiegel über einer Gasflamme $^1/_2$—1 Minute geglüht (bei längerem Glühen werden die Schliffe meist undurchsichtig) und dann untersucht werden. Beim Glühen wird die organische Substanz zerstört, und man bekommt unter anderem die Sharpeyschen Fasern, wenigstens die nicht verkalkten, äußerst deutlich zu Gesicht (Kölliker, 86).

393. Die Sharpeyschen Fasern kann man auch durch Färbung am entkalkten Knochen darstellen. Kölliker (86) verfährt folgendermaßen: Ein Schnitt von demselben wird mit Acid. acet. conc. durchsichtig gemacht und sofort auf kurze Zeit, $^1/_4$, $^1/_2$—1 Minute, in konzentrierte Indigokarminlösung gebracht, hierauf in destilliertem Wasser ausgewaschen und dann entweder in Glyzerin, oder in

Kanadabalsam aufgehoben. Die Sharpeyschen Fasern werden blaßrot bis dunkelrot, die übrige Knochensubstanz blau.

394. Um die Knochenkörperchen Virchows zu isolieren, d. h. die Knochenhöhlen mit dazugehörigen Primitivröhrchen mit den sie begrenzenden Grenzscheiden, verfährt man in der Weise, daß man dünne Schliffe in einer konzentrierten Salpetersäure Virchow (50) einige Stunden bis einen Tag verweilen läßt; die Schliffe werden auf einem Objektträger deponiert und mit einem Deckgläschen bedeckt. Drückt man auf das Deckgläschen mit einer Nadel, so kommen in der Regel ellipsoidische Körper mit zahlreichen Ausläufern isoliert zum Vorschein.

395. Für Studium der **Ossifikation** nehme man als Material am besten Röhrenknochen embryonaler Säugetiere, entkalke dieselben und schneide in der Längsrichtung etc.

396. Als Färbung kann man anwenden: Methylgrün-Eosin siehe § 231) oder Karmin-Hämatoxylin. Nach der Färbung mit Borax-Karmin nachzufärben mit Hämatoxylin (Strelzoff, 73), Bismarckbraun, Thionin usw.

397. Vermittelst der Doppelfärbung Borax-Karmin — Bleu de Lyon (s. § 216) färbt sich außer dem Knochengewebe und den Bindegewebsfribillen auch das entkalkte Dentin, und man kann die feinste Ablagerung desselben auf diesem Wege nachweisen (Röse, 93).

398. Färbt man die zum Studium der Ossifikation bestimmten Präparate mit Hämatoxylin und behandelt dieselben sehr kurze Zeit mit Pikrinsäure, so erzielt man eine sehr instruktive Doppelfärbung, indem die Knorpelsubstanzüberreste blau und die neugebildeten Knochenlamellen gelb bis bräunlich erscheinen (Klaatsch, 87).

399. Besonders zum Studium der Knochenbildung geeignete Dauerpräparate durchsichtiger Embryonen erhält man nach O. Schultze (97), indem man die mit Alkohol mindestens 8 Tage (nicht mit Säuren) fixierten Embryonen in wässerige Lösung von Kalium causticum von 3—5% überträgt (bei größeren Embryonen das Hirn mit Pinzette und kleinem Löffel entfernen und die Bauch- und Brusteingeweide nach einem Medianschnitt durch die Bauchdecken). Sind die Embryonen durchsichtig, so können sie in Glyzerin mit Formolzusatz (Wasser 100, Glyzerin 30, Formol [35%ig] 2) konserviert werden.

Literatur zu Kapitel 6: Schaffer (88, 93 und 03), für Zähne v. Ebner (91).

7. Kapitel.

Muskel, Nervenfaser und Nervenendigungen im Muskel.

400. Die **quergestreiften Muskeln**, z. B. einem Schenkel eines Frosches entnommen, werden **frisch** auf einem Objektträger in physiologischer Kochsalzlösung oder einer anderen indifferenten Flüssigkeit untersucht. Die Querstreifung von solchen Muskeln ist kaum zu sehen, besser die Fibrillärstreifung.

Bei Fröschen sieht man oft zwischen den Fibrillen glänzende Pünktchen (namentlich bei Winterfröschen); es sind in der Regel Fettkügelchen.

401. Nach einiger Zeit hebt sich schon bei dieser Untersuchungsweise das Sarkolemma gewöhnlich ab.

Noch rascher kann man das Sarkolemma dadurch zur Ansicht bringen, daß man zu frisch gezupften Muskelfasern etwas Wasser zusetzt; es hebt sich alsdann das Sarkolemmahäutchen so ab, daß es mehr oder weniger auffällige Hervorragungen bildet.

402. Für die Darstellung des Sarkolemmas empfiehlt Solger (89 a) statt des gewöhnlichen Wassers, resp. Kochsalzes, die Anwendung einer kalt gesättigten Lösung des kohlensauren Ammoniaks. Schon nach 5 Minuten hebt sich der Sarkolemmaschlauch an sehr vielen Stellen ab.

Nach Froriep (78) verhält sich das Sarkolemm gegenüber mikrochemischen Reagenzien nicht wie eine Zellmembran, sondern wie Bindegewebe; es wird von Trypsin nicht angegriffen, löst sich (bis auf einen ganz kleinen Rest) durch Kochen in verdünnter Säure, »verhält sich also wie leimgebendes Bindegewebe und ganz entgegengesetzt den protoplasmatischen Gebilden«.

403. Man sieht die **Querstreifung** sehr gut an alten, in **Spiritus** längere Zeit (Monate, Jahre) aufbewahrten Wirbeltiermuskeln, die man nach der Isolation auf dem Objektträger oder in Schnitten mit Hämatoxylin färben und in verdünntes Glyzerin einschließen kann. Die doppeltbrechenden Substanzen erscheinen dunkelblau, das übrige heller bis farblos. Denselben Effekt bewirken auch andere Farbstoffe, z. B. die basischen Aniline.

404. Es ist eine Anzahl von Reagenzien vorhanden, die den fibrillären Zerfall der Muskelfaser beim Zupfen begünstigen.

Spiritus in allen Konzentrationen (ausgenommen die allerschwächsten etwa bis 10 %).

Sehr dünne Chromsäurelösungen (unter $^1/_{10}$ %), dünne Lösungen der chromsauren Salze.

405. Schwache Essigsäure ($^1/_2$ bis 1 %), eine 1 bis 5 ‰ige Salzsäurelösung, Magensaft etc. bewirken dagegen den Zerfall der Muskelfasern in Scheiben (aber in keine Bowmanschen).

406. Verschiedene Käferarten (z. B. Hydrophilus piceus) werden nach Rollett (85) äußerlich abgetrocknet und lebend in Alkohol von 93 % gebracht. Die Muskeln zeigen unter Umständen Zerfall in Bowmansche Scheiben (Querscheiben) mit erhaltenem Sarkolemma. Man untersucht sie nach 24—48 Stunden in verdünntem Glyzerin. Nach 10—12 Tagen verwende man, um sie, wenn man, was sehr zu empfehlen ist, beabsichtigt, mit Hämatoxylin zu tingieren, Glyzerinhämatoxylin. Man setze zu mit Wasser verdünntem Glyzerin wenig Hämatoxylin, zupfe in demselben und färbe 6 bis 12 Stunden.

Verdünnte Säuren dagegen machen die Substanz der Bowmanschen Scheiben selbst quellen und lösen dieselbe endlich auf (Krause). Die Säurewirkung studiere man nach Rollett, indem man Käfermuskeln, welche 24 Stunden in 93 %igem Alkohol gelegen haben und die den früher beschriebenen Scheibenzerfall zeigen, in Glyzerin zupfe und an den Rand des Deckgläschens einen Tropfen Glyzerin bringe, welchem eine Spur von 1 %iger Ameisensäure zugesetzt worden war. Dann untersuche man auch in 1 %iger Ameisensäure direkt.

407. Zum weiteren Studium (auch der Cohnheimschen Felder) empfiehlt sich Vergoldung (siehe § 441 ff.). Rollett verfährt folgendermaßen: Man bringe ganz frische Käfermuskeln nach Retzius in $^1/_5$—$^1/_2$ %ige Goldchloridlösung, ziehe sie mit Platinnadeln etwas auseinander, lasse sie 20—25 Minuten im Goldbade verweilen und bringe sie dann in 1 %ige Ameisensäure oder Bastian-Prichardsche Reduktionsflüssigkeit (siehe Prichardsche Lösung).

408. Es ist nicht gleichgültig, ob man einen gedehnten oder nicht gedehnten, kontrahierten oder schlaffen Muskel untersucht.

Um sich alle diese Zustände des Muskels zu beschaffen, verfährt man in der Weise, daß man durch eine passende Lage der Extremitäten, z. B. an einem Muskel oder einer Muskelgruppe, den gedehnten oder nicht gedehnten Zustand herstellt. Ist das geschehen, so injiziert man durch Einstich mit einer Pravazschen Spritze etwa $^1/_4$—$^1/_2$ ccm einer 1 %igen Osmiumsäure, oder einer anderen geeigneten Fixierungsflüssigkeit, welche sich den Fasern entlang verbreitet und diese sofort fixiert. Nach 15—20 Minuten

schneidet man mit einer krummen Schere in dieser Weise fixierte Stücke aus, wäscht sie mit destilliertem Wasser und fasert auf dem Objektträger. Man sieht die Querstreifung sehr deutlich, schon an ungefärbten und in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten.

Solche gedehnte und nicht gedehnte Muskeln können aber auch in Tetanus versetzt werden, indem man die Muskeln beispielsweise elektrisch reizt und in kontrahiertem Zustande, wie oben erwähnt, fixiert und in ganz gleicher Weise weiter behandelt (Ranvier, 89).

409. Auch rote und weiße Muskeln sehen nicht ganz gleich aus, namentlich, was die Höhe der Scheiben und die Verteilung der Kerne betrifft.

Die Mehrzahl der Muskeln der unteren Extremität des Kaninchens sind weiß, rot sind dagegen der Semitendinosus, Cruralis, Adductor brevis, Soleus, Quadratus femoris (Ranvier, 89).

410. Die Beziehungen der Fibrillengruppen zum Sarkoplasma (Cohnheimsche Felder) und die Kerne studiere man an Querschnitten mit Osmiumsäure in gedehntem Zustande fixierter Muskeln. Auffallend viel Sarkoplasma im Verhältnis zu der Menge der Fibrillen sieht man beispielsweise an den die Rückenflosse des Seepferdchens bewegenden Muskeln; unter den Säugetieren bieten die Brustmuskeln der Fledermäuse Ähnliches (Rollett, 89).

411. Um die Verteilung der Kerne in verschiedenen Muskelarten der verschiedenen Tiere zu studieren, schneide man die Muskelfaser quer; auf sehr dünnen Schnitten kann man auch die Verteilung der Fibrillen in der Faser studieren. Muskelfasern, die vorher vergoldet (siehe § 441 ff.) und quer, resp. längs geschnitten waren, zeigen auf das deutlichste das dunkelgefärbte Sarkoplasma.

412. Um die Beziehungen der Muskelfaser zur Sehne zu studieren, werden außer dünnen, gut fixierten, orientierten und gefärbten Schnitten die Methode von Weismann und die von Ranvier angewendet.

413. Kleine Muskeln mit entsprechenden Sehnen werden mit 35 %iger Kalilauge $^1/_4$ Stunde lang behandelt und dann auf dem Objektträger die Stelle zwischen Muskel und Sehne gefasert. So lassen sich Muskelfasern im Zusammenhang mit der entsprechenden Sehne isolieren (Weismann, 61).

414. Ranvier empfiehlt, einen lebenden Frosch in Wasser von 55° C zu setzen; er stirbt darin sehr bald, und die Muskeln werden starr. Man lasse den Frosch in dem kälter werdenden Wasser $^1/_4$ Stunde, dann wird er herausgenommen. Man schneidet mit einer Schere einen kleinen Streifen aus, der gleichzeitig Muskel und Sehne enthält, und fasert im Wasser.

415. Für Isolation der freien Enden der Muskelfasern gibt es eine Methode von Rollett (vgl. Kühne, 62), nach der man Muskelfasern im zugeschmolzenen Röhrchen etwa 10 Minuten auf 120—140° im Sandbade erhitzt.

416. Zum selben Zwecke empfiehlt Kühne (62): In 0,1 g Schwefelsäure (1,83 spezif. Gew.) auf 1 l Wasser bringe man den Muskel auf 24 Stunden; während dieser Zeit prüft man die Reaktion der Flüssigkeit, und wenn dieselbe nicht mehr sauer ist, ersetzt man die Flüssigkeit durch eine neue. Man schüttelt nun den Muskel mit destilliertem Wasser in einem Probierglase, erneuert das Wasser, bis es nicht mehr sauer reagiert, und setzt dann den Muskel in einem größeren Gefäß mit destilliertem Wasser in einen Thermostat von 35—40° C. Nach 24 Stunden bei abermaligem Schütteln in einem Probierglas mit destilliertem Wasser zerfallen die Muskeln in Fasern.

417. Auf die Beziehungen der Muskelfibrillen zu »Sehnenfäserchen« an dem Polster der Unterlippe des Kaninchens macht W. W. Podwissotzki (87) aufmerksam, und zwar mit der Methode: Flemmingsche Flüssigkeit, Safranin und Ausziehen mit Pikrinsäure.

418. Glatte Muskelfasern werden mit starker bis 20%iger **rauchender Salpetersäure isoliert.** (Reichert, 49a). Frische Stücke der Muskelhaut eines Darmstückes werden in die eben angegebene Salpetersäure auf einige Stunden (2 bis 3 Stunden) eingelegt. So vorbereitete Muskeln werden mit Wasser gewaschen und lassen sich sehr gut auf dem Objektträger zerfasern. Läßt man die Stücke in der Salpetersäure längere Zeit (12—24 Stunden), so fallen die Muskeln beim Schütteln von selbst auseinander; die einzelnen Muskelzellen aber sind schlecht erhalten, unregelmäßig gezackt und der Kern ist vollkommen aufgelöst. Solche Präparate können in Glyzerin als Dauerpräparate eingeschlossen werden.

Um die glatten Muskelzellen gut zu erhalten, kocht man Darmmuscularis in 2,5%iger Salizylsäure (Froriep, 78) und bewahrt sie darin auf. Nach Monaten läßt sich die

Muskelhaut vollkommen zerschütteln. Zentrifuge. Heidenhain (03a).

419. Legt man aber kleinere Stückchen in eine **Kalilaugelösung** von spezifischem Gewicht von 1,33 (32,5%) und beläßt sie dort $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden, so lassen sich in derselben Flüssigkeit durch Fasern zahlreiche deutliche Spindeln darstellen. Ist der Mazerationsprozeß vollkommen gelungen, so zerfallen die Muskelmembranen in lauter Fasern schon infolge des Druckes des Deckgläschens; sie werden in Kalilauge untersucht. In derselben Weise isoliert man die verzweigten quergestreiften Muskelzellen aus der Zunge des Frosches. Auch in Spiritus gewesene Präparate lassen sich auf die angegebene Weise mazerieren (Moleschott, 59 und 63).

420. Es ist zwar möglich, durch vorsichtiges Neutralisieren der Kalilauge mit Säuren, Auswaschen und Färben solche Präparate in Glyzerin überzuführen, die Prozedur ist aber eine komplizierte und minuziöse.

Ewald (97) gießt reichlich 30%ige Essigsäure im Überschuß zum Brei der mit Kalilauge isolierten Elemente, läßt absitzen, hebert ab, färbt mit Hämatoxylin und verfährt weiter, wie in § 267 angegeben wurde.

Born bereitet die durch die Kalilauge isolierten Muskelfasern dadurch zum Einschließen vor, daß er sie zunächst in Glyzerin zerteilt und darauf 2—3 Tropfen salzsäurehaltigen Glyzerins und Jodtinktur so lange zusetzt, bis beim Umrühren die braune Jodfärbung des Glyzerins nicht mehr verschwindet. Die Jodfärbung der Fasern schwindet später wieder, kann aber durch Karminfärbung ersetzt werden.

421. An kleinen Gefäßen, z. B. den Mesenterien kleinerer Tiere, lassen sich die Kittlinien der glatten Muskelfasern sehr schön darstellen. Solche Bilder findet man gelegentlich an Mesenterien, die man zum Zwecke der Endothelzeichnung hergestellt hat, vor (siehe § 270).

422. Mit einer 1%igen Osmiumsäure fixierte glatte Darmmuskulatur kleinerer Tiere, z. B. des Frosches, wird mit Paraffin durchtränkt und genau senkrecht auf die Richtung der Fasern möglichst dünn (unter 5 μ) geschnitten. Die Querschnittsbilder sind instruktiv und sehr charakteristisch. An gefärbten Längsschnitten studiere man die stabförmigen Kerne der Muskelfasern.

423. An dünnen (5 μ) Querschnitten durch gut fixierte (z. B. mit Flemmingscher Lösung) glatte Muskelfasern, etwa der Muscularis des Darmes einer Katze, sieht man zwischen

den Muskelfasern Zellbrücken, die den Querschnitten der Zelleisten entsprechen (Barfurth, 91). Vgl. auch § 276 f.

Schaffer (99), welcher die an Querschnitten glatter Muskelfasern zu beobachtenden, Interzellularbrücken ähnlichen Verbindungen (Kultschitzky, Barfurth) als ein Kunstprodukt bezeichnet, weist ein zwischen den Muskelfasern sich findendes zartes, von Lücken durchsetztes Bindegewebe mit Pikrofuchsin (siehe § 331) und Pikronigrosin (siehe § 331) nach.

424. Ein vortreffliches Objekt für Untersuchung der glatten Muskelbündel ohne Isolation findet man im Mesenterium des Enddarmes von Salamandern (sie verlaufen hier in der Richtung des Darmes), Ebner (82), und in der gedehnten Harnblase desselben Tieres oder des Frosches. »Um dieses Präparat von der Froschblase gut zu erhalten, binde ich den Darm oberhalb der Blase ab und injiziere vom After aus Drittelalkohol, bis die Blase prall gespannt ist. Die Kanüle bindet man in der Weise ein, daß man die Haut um den Anus herum umschneidet und sie über der Kanüle zusammenbindet. Beim Herausziehen der letzteren bindet man den Anus auf die nämliche Weise ab. Nunmehr schneide ich den ganzen Körper des Frosches rund um die Blase herum ab und hänge sie auf 24 Stunden in Drittelalkohol ein. Am nächsten Tage wird die Blase ab- und aufgeschnitten, in Hämatoxylin gefärbt und das Epithel abgepinselt. Die Kongofärbung folgt zuletzt nach.« Heidenhain (03b).

425. Die Herzmuskelfasern vom Myokard des erwachsenen Menschen zerfallen mitunter durch Mazeration in 20%iger rauchender Salpetersäure (bis 24 Stunden) in die den Myoblasten entsprechenden Stücke mit je einem Kern. (Kalilauge vom spez. Gewichte 1,33 $^1/_2$—1 Stunde angewandt, tut dasselbe). Die Grenzen zwischen den Myoblasten des Myokards verschwinden nicht immer spurlos und lassen sich z. B. mit Hämatein mitunter, wenn auch nur stellenweise, nachweisen.

426. Die Muskelzellen der **Purkinjeschen Fäden** werden in der Weise dargestellt, daß man $^1/_2$ mm dicke Lamellen mit dem Endokard in wenig Ranvierschen $^1/_3$ Alkohol auf 24 Stunden einlegt. Auch 5%ige Lösung von Ammonium monochromat in Wasser leistet Vorzügliches (Ranvier, 89).

Es läßt sich nun das Endokard ganz glatt abziehen, die Purkinjeschen Fäden werden abgehoben und zer-

zupft. Es lassen sich die Zellen bequem mit Nadeln isolieren, eventuell isolierte Zellen beispielsweise mit Pikrokarmin nachfärben (nicht zu stark) und in Glyzerin einschließen. Sehr geeignete Objekte liefern die Herzen der Schafe, Ziegen und Pferde, nicht des Menschen.

427. Die **markhaltigen Nervenfasern** kann man im überlebenden Zustande in einer indifferenten Flüssigkeit (siehe § 10 ff.) zerfasern und in dieser Weise studieren.

Frische Nerven, einem eben getöteten Tiere, z. B. Frosch (Nervus ischiadicus), entnommen, werden auf dem Objektträger sorgfältig der Länge nach gefasert. Es empfiehlt sich, auch hier die Ranviersche Halbeintrocknungsmethode zu befolgen (siehe § 326). Ist die Prozedur fertig, so kann man physiologische Kochsalzlösung hinzusetzen und den eigentümlichen Glanz der Markscheide, den homogen erscheinenden Achsenraum, die Ranvierschen Einschnürungen, mitunter Lantermansche Segmente und selten die Kerne sehen.

428. Setzt man Wasser hinzu und namentlich destilliertes, so verändern sich die Markscheiden in kürzester Zeit in eigentümlicher Weise; es verschwinden die Ranvierschen Einschnürungen, später auch die Lantermanschen Segmente, und es treten innerhalb der Markscheide eigenartige Gerinnungen auf. An den freien Enden fließt das Mark aus und gerinnt zu sehr typisch aussehenden Myelintropfen. Diese letzteren trifft man auch massenhaft, wenn man weiße Substanz des zentralen Nervensystems fasert.

429. Zu frisch hergestellten Zupfpräparaten kann man auch eine 1%ige Überosmiumsäure zusetzen und in einer feuchten Kammer $^1/_2$ Stunde einwirken lassen. Die Nerven sind fixiert, und die Markscheiden fangen an, schwarz zu werden. Die Ranvierschen Einschnürungen bleiben farblos und heben sich dadurch scharf ab. Entfernt man die Osmiumsäure mit Fließpapier, legt ein Deckgläschen auf die zerzupften Nerven, wäscht zunächst mit destilliertem Wasser, welches man von einer Seite des Deckglases zufließen läßt und auf der anderen mit einem Streifen Fließpapier aufsaugt, gut aus und läßt dann anstatt des Wassers langsam Glyzerin zufließen, so kann man in der letzteren Flüssigkeit dauernd einschließen (siehe § 159).

430. Zu frischen gezupften Präparaten kann man ferner wässerige Silbernitratlösung etwa $^1/_{10}$% hinzu-

setzen (auch nach § 273). Nach 5 Minuten entfernt man den Tropfen mit Fließpapier und verfährt im übrigen wie im vorigen Falle, d. h., man wäscht mit destilliertem Wasser unter dem Deckglase, setzt allmählich Glyzerin zu etc.

Man erhält auf diese Weise die bekannten **Ranvierschen Kreuze** und die Frommannschen (64) Linien; die letzteren pflegen erst später unter dem Einflusse des Lichtes zu erscheinen. Will man solche Präparate in Kanadabalsam einschließen, so kann man Wasser durch Alkohol unter dem Deckglase ersetzen, den letzteren mit Nelkenöl; dieses wird mit Fließpapier entfernt, und man läßt Kanadabalsam hinzufließen.

Auch folgende Methoden können mit Vorteil in Anwendung gebracht werden.

431. Ein dünner Nerv, etwa der Ischiadicus eines Frosches, wird in situ auf einem Stückchen Holz mit Nähfäden aufgespannt, herausgeschnitten und mit einer $^1/_2$ %igen Osmiumsäure etwa 12 Stunden behandelt. Der fixierte Nerv wird etwa $^1/_2$ Stunde mit destilliertem Wasser gewaschen, kommt dann direkt in absoluten Alkohol auf etwa zwei Stunden, wird in einem ätherischen Öle ebensolange aufgehellt und kann nun auf dem Objektträger zerfasert werden. Es wird dazu aber nur das Stück gebraucht, welches zwischen den Schnürstellen gelegen ist, und zwar in einiger Entfernung, etwa $^1/_2$ mm von derselben entfernt. Solche gezupfte Präparate können direkt in Kanadabalsam eingeschlossen werden, nachdem man das überflüssige Öl mit Fließpapier entfernt hat.

432. Beliebig dicke Nerven, z. B. eines Säugetieres, werden in mäßig gespanntem Zustande in eine $^1/_2$ bis 1%ige wässerige Silbernitratlösung auf 12—24 Stunden gelegt, kurze Zeit mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol übertragen. Solche Nerven können entweder wie im vorigen Beispiel gezupft werden, oder aber nach den allgemeinen Regeln, z. B. mit Paraffin, durchtränkt und der Länge nach geschnitten werden. Es erscheinen nach kurzer Zeit im Lichte Ranviersche Kreuze und Frommannsche Linien und Grenzen der Endothelzellen der Perineurien (lamellöse Scheiden).

433. Vor Jahren hat Kühne (89) auf eigentümliche Netze innerhalb der Markscheide aufmerksam gemacht, die man vermittelst der Verdauung der Nervenfasern mit Trypsin oder Pepsin gewinnen kann. Noch einfacher bringt man diese zur

Anschauung, wenn man markhaltige Nerven mit Alkohol und Schwefeläther behandelt, zerfasert und mit Hämatoxylin, z. B. mit Böhmerschem, auf dem Objektträger färbt. Diese Netze, deren Präexistenz noch nicht strikte nachgewiesen ist, färben sich blau und sind die Hornspongiosanetze Kühnes.

434. Die **Schwannsche Scheide und die Kerne** studiert man an mit Osmiumsäure behandelten, gezupften und eventuell gefärbten Präparaten.

435. Die Henlesche Scheide untersucht man an sehr feinen Nerven, die man mit Silbernitrat behandelt nach der bei den Endothelien (siehe § 270) angegebenen Methode.

436. Behandelt man nach Fleischl (74) die Nerven, um sie zu fixieren, mit Chromsäure, Alkohol oder chromsauren Salzen und zerlegt sie in Quer- oder Längsschnitte, so sieht man keine diskreten Fibrillen im Achsenraume mehr, sondern diese sind mehr oder minder zu einem dünneren (Chromsäure-) oder dickeren (Alkohol-) Faden zusammengebacken — sogenannter Achsenzylinder.

Um den **Achsenzylinder** zu isolieren, empfiehlt es sich, die Nerven mit sehr schwacher Chromsäure, etwa $^1/_{10}$ %, oder mit schwachem doppeltchromsaurem Kalium in etwa $^1/_5$ %iger Lösung oder in Holzessig (mit nachfolgender Safraninfärbung) einige Tage bis zu einer Woche zu behandeln und dann zu fasern. Es gelingt meistens beim Zupfen, die geronnene Markscheide stellenweise abzustreifen und so den sogenannten Achsenzylinder bloßzulegen. Ganz besonders große Strecken des Achsenzylinders quellen hervor, wenn man zu den frisch gezupften Präparaten Eisessig zusetzt, eine Methode, die von v. Kölliker (93) empfohlen wird.

437. Um die **Fibrillen** im Achsenraume zur Darstellung zu bringen, empfiehlt sich folgende Methode Kupffers (83): Nervus ischiadicus eines Frosches z. B. wird bloßgelegt, auf einem Stückchen Holz in seiner natürlichen Spannung mit Faden befestigt, ausgeschnitten, auf etwa 4 Stunden in $^1/_2$ %ige wässerige Überosmiumsäurelösung gebracht, ebenso lange Zeit in destilliertem Wasser ausgewaschen und mit 90%igem Alkohol etwa 24 Stunden nachbehandelt. Den so fixierten Nerven werden Stückchen von etwa $^1/_2$ cm Länge entnommen und in einer gesättigten, wässerigen Lösung des sauren Fuchsins 12 Stunden lang gefärbt und dreimal 24 Stunden in absolutem Alkohol nachbehandelt.

Man durchtränke solche Stückchen in gewöhnlicher Weise mit Paraffin (belasse sie aber nur je $^1/_2$ Stunde in den Durchtränkungsflüssigkeiten und schneide möglichst dünn, nicht über 3 μ). Die Fibrillen erscheinen, wenn die Färbung gelungen ist, rot, das interfibrilläre Plasma farblos; am instruktivsten sind die Längsschnitte, welche mit besonderer Sorgfalt orientiert sein müssen.

Man kann ähnliche, jedoch nicht so schöne Resultate erzielen, wenn man statt des sauren Fuchsins Bismarckbraun und ähnliches in analoger Weise anwendet.

Die Gebilde des Achsenraumes lösen sich in einer $1\,^0/_{00}$igen Salzsäurelösung und in einer $10\,^0/_0$igen Kochsalzlösung (Halliburton).

438. Remaksche Fasern werden am besten dargestellt, indem man den Sympathicus, oder besser, den Vagus eines Säugetiers mit Osmiumsäure behandelt und dann fasert. Zwischen den markhaltigen schwarzen Fasern des Vagus findet man zahlreiche sympathische. Die letzteren bleiben bei dieser Behandlung ungefärbt.

439. Zum Studium der allgemeinen Verbreitung von **Nerven in Muskeln** empfiehlt sich 8—12 Tropfen Essigsäure auf 100 ccm destilliertes Wasser; kleine Muskeln werden darin in wenigen Stunden durchsichtig (Kölliker). Ebenso gute Dienste tut die Salzsäure $1\,^0/_{00}$ig, sie löst das Syntonin und verschont die Nerven (Engelmann).

440. Für die Darstellung der **Nervenenden in den quergestreiften Muskeln** wähle man, wenn möglich, kurze Muskeln, z. B. die Augenmuskeln. Solche werden ausgeschnitten, auf einem Objektträger ausgebreitet und mit Nadeln vorsichtig der Länge nach gefasert. Setzt man eine $1\,^0/_0$ige Essigsäure zu, bedeckt mit einem Deckglase, so treten nach ein paar Stunden die Nerven hervor, und man kann diese bis in den Muskel verfolgen. Die Essigsäure-Präparate lassen sich nicht dauernd einschließen.

441. Für das Studium der Nervenendigungen überhaupt, und der im Muskel insbesondere, ist die von Cohnheim (67a) (für Cornea zunächst) eingeführte sogenannte **Vergoldung** von Bedeutung. Die Vorschrift lautet: Kleinere Stücke (in unserem Fall Muskel) kommen in eine $^1/_2\,^0/_0$ige, mit einer Spur Essigsäure angesäuerte Goldchloridlösung, bis sie gelb werden (einige Minuten bis $^1/_2$ Stunde). Dann werden sie mit dest. Wasser flüchtig abgespült und bleiben in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser im Dunkeln

stehen. In der Regel verändern die Stücke hierbei die Farbe, werden gelbgrau, grauviolett, rot, wofür unter Umständen 1—3 Tage nötig sind. Die günstigsten Stellen sucht man in den Nüancen von Violett zu Rot. — Die Goldmethode ist keine sichere. Sie führt gar oft zu schlechten oder gar keinen Resultaten, und man ist in den meisten Fällen nicht einmal imstande, die Fehlerquellen anzugeben.

442. Goldchlorid wird mit Wasserstoffhyperoxyd augenblicklich reduziert.

Von den für die Nervenenden im Muskel gebräuchlichen Methoden nennen wir als die zwei relativ sichersten, die Löwit-Fischersche und die Ranviersche.

443. Die **Löwitsche** (Löwit, 75, Fischer, 76, Bremer, 82) **Methode.** Kleine Muskelstücke (1 mm) werden in $^1/_3$ Ameisensäure (Ameisensäure 1, destilliertes Wasser 2) gelegt, bis sie durchsichtig werden (ein paar Minuten). Sie werden alsdann in eine kleine Quantität einer 1%igen Goldchloridlösung auf etwa $^1/_4$ Stunde übertragen, in dieser Flüssigkeit werden sie gelb. Die Stücke kommen in die $^1/_3$ Ameisensäure zurück und verbleiben darin 24 Stunden in der Dunkelheit; man kann sie dann auf ebenso lange in eine konzentrierte Ameisensäurelösung übertragen, in welcher sie ebenfalls im Dunkeln gehalten werden.

Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen und auf dem Objektträger gezupft. Die zentrale Partie der Stücke ist gewöhnlich violett, die periphere schmutzigbraun. Zwischen den beiden Schichten liegen Muskelfasern, welche die am besten tingierten Nerven und Nervenendapparate aufweisen.

444. Kühne (86) säuert mit $^1/_2$%iger Ameisensäure vor, behandelt die Stücke mit 1%igem Goldchlorid und reduziert mit 20 bis 25%iger Ameisensäure, gelöst in Glyzerin und Wasser zu gleichen Teilen.

445. **Ranvier** (89) behandelt Muskelstücke, bevor er sie in eine 1%ige Goldchloridlösung überführt, mit Zitronensaft. (Ranvier macht darauf aufmerksam, daß nur frisch gereifte Zitronen geeignet sind; dieselben werden ausgepreßt und durch Flanell filtriert.) Im Zitronensaft verbleiben die Stücke, bis sie durchsichtig werden (Minuten); von da überträgt man die Stücke in eine 1%ige Goldchloridlösung auf ca. 20 Minuten; mit destilliertem Wasser kurz abgespült, kommen sie in ein schwach angesäuertes

Wasser (1 Tropfen Eisessig auf 30 ccm Wasser), worin sie 24—48 Stunden im Lichte stehen gelassen werden. Bei so behandelten Stücken ist die Reduktion des Goldes keine vollkommene, deshalb dunkeln die daraus gewonnenen Präparate in der Regel nach; dies ist nicht der Fall, wenn man statt des schwachen Essigsäurewassers $^1/_3$ Ameisensäure (wie bei Löwitscher Methode) 24 Stunden im Dunkeln einwirken läßt.

446. Golgi (80, siehe 94) säuert mit $^1/_2$%iger Arsensäure vor, statt Goldchlorid gebraucht er Goldchloridkalium $^1/_2$%ig $^1/_2$ Stunde, spült mit Wasser ab und bringt dann in 1%ige Arsensäure, worin die Reduktion im Sonnenlichte vor sich geht.

447. Muschenkoff empfiehlt:

Objekte, nicht über $^1/_2$ ccm, kommen entweder in eine 2%ige doppeltchromsaure Ammoniaklösung oder in doppeltchromsaures Kalium derselben Konzentration auf etwa 30 Tage. Nach dem Waschen werden die Stücke in frischen Zitronensaft oder in 20% Ameisensäure auf 15—20 Minuten übertragen. Nach Abspülen mit destilliertem Wasser werden die Stücke in eine $^1/_2$%ige Goldchlorid- oder Goldchloridkaliumlösung auf $^1/_2$ Stunde eingelegt. Reduziert wird in mit Essigsäure wenig angesäuertem Wasser.

448. Die Vergoldungsmethoden sind alle unsicher. Am leichtesten gelingen die Vergoldungen bei Reptilien (unter diesen bei Pseudopus Pallasii), dann kommen die Säuger. Ungünstig sind die Vögel, Amphibien und Fische. Augenmuskeln der Knochenfische sollen aber günstig sein.

449. Golgis Nervenendorgane in den Sehnen der Säugetiere und Vögel werden gleichfalls durch Vergoldung dargestellt.

450. Stöhr (94) empfiehlt folgende Methode: Eintauchen in eine Mischung von 8 Teilen Goldchlorürlösung zu 1% und 2 Teilen reiner Ameisensäure (die Mischung muß dreimal gekocht werden), 40—55 Minuten lang. Auswaschen in destilliertem Wasser. Übertragung in eine Mischung von reiner Ameisensäure, 10 Teile, und destilliertem Wasser, 40 Teile. Reduktion am Licht 36 Stunden lang. Aufbewahren in Spiritus im Dunkelen.

451. Negro (87) empfiehlt, namentlich für Eidechse und Frosch, Hämatoxylin, um an frischen Muskeln in wenigen Minuten die Nervenenden sichtbar zu machen.

452. Gad (95) teilte folgende Methode von Sihler zur Darstellung der Nervenenden in den quergestreiften

Muskeln mit: Muskelbündel in der Dicke eines Gänsekieles werden auf etwa 18 Stunden in

1. Gewöhnliche Essigsäure 1
   Glyzerin 1
   Chloralhydratlösung 1% wässerig 6

eingelegt, in reinem Glyzerin weiter gezupft und dann in die Färbeflüssigkeit

2. Ehrlichsches Hämatoxylin . . . 1
   Glyzerin 1
   Chloralhydratlösung 1%ige . . . 6

übertragen, worin die Stücke 3—10 Tage verweilen. Die Stücke werden nun in Essigsäure-Glyzerin eingelegt, worin die Farbe differenziert wird und zwar so, daß die Nerven und Nervenenden an den Muskeln und Gefäßen intensiv tingiert werden, das übrige hell erscheint. Aus der Farbe 2 kann man die Stückchen in reinem Glyzerin aufheben und erst später mit Essigsäure (Lösung 1) behandeln. Nach Sihler auch von Balter für sensible Organe des Muskels empfohlen.

453. Die Vergoldung der Nervenenden in der glatten und in der Herzmuskulatur ist eine äußerst unsichere.
Literatur zu Kap. 7: Ranvier (78 und 80).

454. Für Behandlung der Schnitte mit Goldchlorid verfährt Nabias (04) in folgender Weise: Schnitte, Objekten entnommen, welche in Alkohol, Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure fixiert wurden, werden mit Wasser geklebt und auf dem Objektträger entwässert. Man unterwirft sie den folgenden Manipulationen. a) Behandlung mit Jodlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300—1000) wenige Minuten. b) Spülung mit Wasser. c) Behandlung mit 1% Goldchloridlösung 3—6 Minuten; die Schnitte werden weiß. d) Spülen mit destilliertem Wasser. e) Spülen in Anilinwasser (1 ccm Anilinöl auf 100—1000 Wasser). In 1 oder 2 Minuten werden die Schnitte violett. Man lasse aber die Schnitte nicht zu dunkel werden. f) Waschen mit destilliertem Wasser etc. Statt Anilinwasser wird auch Resorzin, 1 : 100 : 1000—10000 empfohlen. Unter anderem sind die Neurofibrillen deutlich gefärbt.

455. Die sogenannte vitale Methylenblau-Färbung von P. Ehrlich (85) zuerst angegeben, mit welcher man Nerven in fast allen Organen außer dem Zentralnervensystem relativ sicher darstellen kann, ist in der letzten Zeit genau von Dogiel (02, 03) geschildert worden. —

Um die Nerven zu färben, verfährt man, indem man Methylenblaulösung A) in die Blutgefäße eines eben getöteten Tieres injiziert, B) in sonstige natürliche Höhlen, oder C) durch Einstich in das subkutane Bindegewebe oder Bindegewebe eines anderen zu untersuchenden Organes einführt, D) indem man Organe, resp. Organteile, unmittelbar mit Methylenblau färbt. —

In allen Fällen gebraucht man Methylenblau (bezogen von Dr. Grübler in Leipzig unter der Marke »für vitale Färbung«) gelöst in 0,75%iger chemisch reiner Kochsalzlösung in destilliertem Wasser. Man nimmt für A) eine $^1/_4$—$^1/_6$%ige Methylenblaulösung; für B) $^1/_4$—$^1/_8$%ige; für C) eine $^1/_6$—$^1/_8$%ige und für D) eine $^1/_4$—$^1/_6$—$^1/_8$% Lösung. Die Lösungen dieser Konzentrationen können leicht aus einer 1%igen Methylenblaulösung hergestellt werden. —

A) Die Blutgefäße der Organe oder die des ganzen Tieres, wenn dasselbe klein ist, werden mit physiologischer Kochsalzlösung, welche auf 37° C gewärmt ist, ausgespritzt, und erst dann wird eine ebenso gewärmte Methylenblaulösung injiziert. Nach 20—30 Minuten werden ganze Organe oder, wenn sie größer sind, 1—2—3 cm große Stücke derselben herausgeschnitten und auf Glaswolle, welche mit $^1/_5$—$^1/_{15}$%iger Methylenblaulösung gut angefeuchtet ist, in eine flache Schale übertragen; diese schließt man mit einem nicht fest schließenden Deckel und stellt sie in einen auf 36° C gewärmten Thermostaten. Nach 10—30 Minuten oder, bei größeren Stücken, nach 1, $1^1/_2$, 2 Stunden werden die Präparate aus dem Thermostaten herausgenommen und wie weiter unten angegeben, fixiert. —

Sind die Organe konsistent, so mache man davon 15 Minuten nach der Methylenblau-Injektion Rasiermesserschnitte und behandle sie in ähnlicher Weise, d. h. befeuchte mit $^1/_{15}$% Methylenblaulösung und setze in einer feuchten Kammer in den Thermostaten. Alle 5 Minuten werden die Schnitte mit dem Mikroskop angesehen um die Nervenfärbung zu kontrollieren. —

Bei Kaltblütern wird die ganze Prozedur bei Zimmertemperatur ausgeführt: man injiziert $^1/_4$—$^1/_8$%ige Lösung; nach $^1/_2$—1—2 Stunden wird das zu untersuchende Organ freigelegt und nach 20—30 Minuten herausgeschnitten, um fixiert zu werden. — Bei der Methode B) und C) verfährt man mutatis mutandis in analoger Weise wie bei A).

D) Ganze Organe oder Stücke derselben von 1—2 cm Größe, in einzelnen Fällen sogar von größeren Dimensionen,

werden herausgeschnitten und auf den mit Glaswolle bedeckten Boden einer flachen Schale gebracht und mit Methylenblau benetzt; nachdem man die Schale mit einem nicht luftdicht schließenden Deckel bedeckt hat, bringt man das Ganze in einen Thermostaten (36° C); in demselben verbleibt das Präparat 1—2, höchstens $2^1/_2$ Stunden und wird dann fixiert. Während das Präparat im Thermostaten verweilt, wird es von Zeit zu Zeit mit einer $^1/_{15}$%igen Methylenblaulösung befeuchtet, damit es nicht eintrocknet. Auch bei dieser unmittelbaren Färbung wird an Kaltblütern bei Zimmertemperatur operiert. —

Von derben Organen, wie z. B. die Wachshaut des Schnabels oder der harte Gaumen von Wasservögeln, werden Schnitte mit Rasiermesser hergestellt und auf einem Objektträger mit $^1/_6$—$^1/_8$%iger Methylenblaulösung benetzt, in einer feuchten Kammer wie oben gefärbt; die Schnitte dürfen nicht schwimmen und müssen vor Verdunstung durch Befeuchten geschützt werden. Die Färbung geht hierbei sehr rasch, in 10—15—20 Minuten vor sich; dann wird fixiert. —

Bei allen diesen Methoden sind kleine Modifikationen, welche dem Charakter des ganzen Verfahrens nicht zuwider sind, selbstverständlich zulässig.

Hat man nun nach einer der vorgetragenen Methoden die Nerven mit Methylenblau gefärbt, so muß die sonst vergängliche Färbung fixiert werden. Dazu gebraucht man entweder pikrinsaures oder molybdänsaures Ammonium, oder beide Salze nacheinander. —

Um mit pikrinsaurem Ammoniak (von Grübler bezogen) zu fixieren, verwendet man eine konzentrierte wässerige Lösung. Wenn die Nerven intensiv genug mit Methylenblau gefärbt erscheinen, überträgt man die Präparate in nicht zu wenig der eben erwähnten Lösung auf 2—6—12—24 Stunden, je nachdem die Stücke groß waren, auf keinen Fall aber länger wie 48 Stunden. Dann wird in Glyzerin und Fixierungsflüssigkeit zu gleichen Teilen eingeschlossen. — Sind die zu untersuchenden Präparate zu undurchsichtig und dick, so muß man sie in zweckmäßiger Weise mit Nadeln, Pinzetten und Scheren zerteilen, indem man sie zupft, aufschneidet, in Lamellen zerreißt usw.

Fügt man zu 100 ccm der Fixierungsflüssigkeit 1—2 ccm einer 2% Osmiumsäure hinzu, so kann man die Präparate

nachträglich mit Pikrokarmin färben und wie vorhin einschließen.

Molybdänsaures Ammonium gebraucht man zur Fixation von Methylenblaupräparaten in 5—8% Lösung bei Zimmertemperatur. Die gefärbten Präparate kommen sofort in ziemlich viel Fixierungsflüssigkeit, je nach der Größe auf 10 Minuten bis 24 Stunden; langer Aufenthalt in derselben schadet den Präparaten nicht. Dann wäscht man die Präparate in einer großen Menge destillierten Wassers, welches man, wenn nötig, wechselt, und überträgt sie in absoluten Alkohol, worin sie nur möglichst kurze Zeit, nicht länger, wie gerade zur Entwässerung nötig ist, verweilen dürfen, jedenfalls nicht länger wie 6 Stunden. Durch Xylol kann man sie nun in Kanadabalsam einschließen. Um die histologischen Elemente besser zu erhalten, setzt man zur Fixationsflüssigkeit Osmiumsäure, und zwar 4—6 Tropfen einer 1%igen Lösung auf 100 ccm; die Weiterbehandlung bleibt im übrigen gleich. —

Will man fixierte Stücke mikrotomieren, so überträgt man sie aus dem absoluten Alkohol in eine mitteldicke Zelloidinlösung auf ein paar Stunden, klebt sie auf einen Holzblock und härtet das Ganze in 70% Spiritus. Will man nicht sofort schneiden, so hebt man die Blöcke in Wasser, worin die Färbung 2—3 Tage lang nicht alteriert wird (Markovitin). Will man in Paraffin schneiden, so fixiere man nach Bethe, § 456. Die Paraffineinbettung jedoch greift die Farbe unter Umständen sehr an.

Das 1. Fixationsverfahren wird bei dickeren Präparaten und der Retina, das 2. bei dünnen Flächenpräparaten und bei Präparaten, welche in Schnitte zerlegt werden, angewandt. Man kann, wenn man z. B. in pikrinsaurem Ammoniak fixierte Objekte schneiden will, diese nachträglich in molybdänsaures Ammonium überführen, kombinierte Fixierung.

456. Um Methylenblaupräparate zu fixieren, empfiehlt Bethe(**95**) folgendes Gemisch: Ammoniummolybdat — 1 g, destilliertes Wasser — 10 ccm, Wasserstoffsuperoxyd — 1 ccm und offiz. Salzsäure — 1 Tropfen. In dieser Flüssigkeit bleiben die Stücke, bei einer Temperatur von + 2 bis — 2° C, je nach ihrer Größe, kleinere 2—3, größere (bis 1 ccm) 4—5 Stunden, hernach noch einige Zeit bei Zimmertemperatur. Sie werden dann ½—2 Stunden in destilliertem Wasser gewaschen, mit kaltem Alkohol entwässert und in Paraffin oder Zelloidin eingebettet. Eine Nachfärbung mit

Alaunkarmin oder mit Anilinfarben ist zulässig. Setzt man nach einiger Zeit der Fixierungsflüssigkeit Osmiumsäure zu, so wird die entstehende Methylenblaufärbung dunkler und alkoholbeständiger.

In der neuesten Zeit empfiehlt Bethe (**96**), namentlich um die niedere Temperatur der vorigen Methode zu umgehen, folgendes Verfahren: nach dem Vorgang von Smirnow und Dogiel benutzt er als Vorfixierungsflüssigkeit eine konzentrische wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium (Ammoniumpikrat), in welcher die mit Methylenblau behandelten, nicht zu großen Objekte 10—15 Minuten verweilen. Ohne zu spülen, überträgt man dicke Objekte (für Totalpräparate) 1. in Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser 20 ccm und offiz. Salzsäure 1 Tropfen. Für dieselben Zwecke dienen auch weitere Mischungen. 2. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, destilliertes Wasser — 10 ccm, 2% Chromsäurelösung — 10 ccm und Salzsäure — 1 Tropfen. Für Schnittzwecke oder bei sehr dünnen Totalpräparaten wende man 3. Ammoniummolybdat (oder phosphormolybdänsaures Natron) 1 g, dest. Wasser — 10 ccm, $^1/_2$% Osmiumsäure — 10 ccm und Salzsäure 1 Tropfen, an. In sub 1 und 2 genannten Flüssigkeiten belasse man kleine Objekte $^3/_4$—1 Stunde (nicht länger), in sub 2 angegebenen 4—12 Stunden. Nach dem Fixieren wird in Wasser gewaschen, in Alkohol übergeführt und durch Xylol in Paraffin eingebettet. Eine Nachfärbung mit Alaunkarmin, Alauncochenille oder mit neutralen Anilinfarben kann ausgeführt werden.

8. Kapitel.

Rückenmark, Gehirn und Ganglien.

457. Beim Herausnehmen des Gehirns und Rückenmarks verfahre man so, daß man zuerst Haut und Muskeln in den betreffenden Partien möglichst vollständig entfernt. Der Rückenmarkskanal wird dann mit einer Knochenzange eröffnet, die Schädelhöhle kann bei kleinen Tieren, z. B. manchen Fischen, Fröschen etc., mit dem Messer, bei jungen Meerschweinchen, Kaninchen der Hauptsache nach mit einer starken Pinzette eröffnet werden; soweit dies möglich ist, gibt es meist bessere Resultate, als wenn bei kleineren Tieren die Anwendung von Knochenzange oder Säge nötig wird. Ist das Gehirn, resp. Rückenmark,

freigelegt, so geht der Herausnahme der Teile das Durchschneiden der zugehörigen Nerven voraus. In die Fixierungsflüssigkeit werden die Stücke auf Glaswolle oder Wattebäusche eingelegt oder an einem weißen Faden eingehängt. Gehirn und Rückenmark großer Säugetiere, die man sich aus dem Schlachthaus verschaffe, geben auch noch, wenn sie erst einige Stunden nach dem Tode des Tieres eingelegt werden, wenigstens gute Orientierungsbilder. Geeignete Fixierungsflüssigkeiten sind hierfür Kalium bichromicum, Müllersche Flüssigkeit, auch Alkohol, und bei frischen Präparaten Sublimat.

458. Um **Ganglienzellen zu isolieren**, hat man eine Reihe von Methoden angegeben, die das mühsame Herauszupfen erleichtern.

459. Eine 1‰ige Osmiumsäure oder $^1/_3$ Alkohol (siehe § 262) wird in das Vorderhorn des Rückenmarks durch Einstechen injiziert, die so fixierte Stelle herausgeschnitten, gezupft und in Glyzerin eingeschlossen.

460. Kleinere Stücke, z. B. aus den Vorderhörnern des Rückenmarks, werden herausgeschnitten und mazeriert. Dazu können folgende **Isolations-Flüssigkeiten** verwendet werden, in welche Stückchen bis zu $^1/_2$ ccm eingelegt werden:

461. $^1/_3$ Alkohol 1—2 Wochen (Ranvier).

462. Jodserum, Max Schultze (64), 24 Stunden.

463. 0,5—0,25‰ige Chromsäure auf 3, 5 Tage und länger.

464. 1‰ige Kalium bichromicum-Lösung 2 Wochen und länger.

465. 1‰ige Osmiumsäure 24 Stunden und länger.

Durch Schütteln oder Zupfen lassen sich dann die Ganglienzellen isolieren. Die Präparate werden in Wasser oder Glyzerin untersucht, sie können vorher durch Zusatz zum Glyzerin, von etwas Eosin z. B., gefärbt werden.

466. Gewisse Strukturen, auf die man bis jetzt nur wenig achtete, lassen sich relativ leicht in den Ganglienzellen darstellen. Nißl (95) und Flemming (95b S. 380 Anm. 6). An in Alkohol fixierten Präparaten, welche in Thionin gefärbt wurden, oder an in Alkohol oder Sublimat behandelten, mit nachträglicher Färbung mit basischen Anilinfarben (s. § 204) oder Hämatoxylin sieht man »tingible Körper« in den Ganglienzellen deutlich abstechen.

467. Die Nißlsche Methode, um seine Äquivalentbilder von Ganglienzellen zu erzeugen, Nißl, 91a, 03, besteht in folgendem: Objekte in Würfelform, nicht unter

1 cm Seite, werden mit einer scharfen Schere herausgeschnitten und mit oft zu wechselndem Spiritus von 96% mindestens 5 Tage lang gehärtet, dann werden sie auf Kork oder Holzklotz mit Fischleim oder Gummi aufgeleimt und ohne vorherige Durchtränkung mit Spiritus von 96% befeuchtet, geschnitten; die Schnitte werden in einem Uhrschälchen mit einer mindestens 1/4 Jahr alten Lösung von Methylenblau B-Patent 3,75 g, geschabter venetianischer Seife 1,75 g, gelöst in 1000 ccm destilliertem Wasser — gefärbt, dabei erwärme man die Lösung, bis Blasen aufsteigen. Man differenziert die Schnitte in wasserhellem Anilinöl 10 ccm, Spiritus von 96% 90 ccm, bis keine gröberen Farbwolken mehr abgehen. Der auf den Objektträger gebrachte Schnitt wird mit Fließpapier getrocknet, mit Kajeputöl aufgehellt, wieder mit Fließpapier getrocknet, mit Benzin geschwemmt, um das Öl zu vertreiben, und in Xylol-Kolophonium, Kolophonium, in Xylol gesättigte, filtrierte Lösung, darauf gebracht. Der Objektträger wird durch die Flamme gezogen (Vorsicht!), bis Xylol verdunstet ist. Man bedecke nun noch heiß mit einem heiß gemachten Deckglase. Da diese Methode eine konventionelle ist und die mit ihr hergestellten Präparate Nißl miteinander vergleicht, so hat sie nur Wert, wenn sie peinlichst genau eingehalten wird und womöglich unter ganz gleichen Bedingungen gehandhabt wird. Resultate: Distinkte Färbung der Nißlschen Körper. Durch andere Methoden hergestellte Bilder der Granula in den Ganglienzellen decken sich selbstverständlich mit denen der Nißlschen Äquivalentpräparate nie ganz.

468. Für Granula der Ganglienzellen empfiehlt Cox (98), in einer der drei folgenden Mischungen zu fixieren:

Mischung 1: Sublimat gesättigt 30, 1%ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;

» 2: Sublimat gesättigt 15, 5%iges Platinchlorid 15, 1%ige Osmiumsäure 10, Eisessig 5;

» 3: Sublimat gesättigt 30, Formol 10, Eisessig 5.

Einwirkung 2—3 Tage, Auswaschen, 60, 70, 90, 98%iger Alkohol, Alkohol-Bergamottöl, Bergamottöl, Paraffin-Bergamottöl, Paraffin. Aufkleben mit Wasser-Eiweiß. Paraffin wird mit Xylol entfernt, Alkohol, dann in Tannin von 20—25% auf 8 Stunden, dann 5 Minuten waschen, dann

entweder in Eisenoxyd-Ammonium-Sulfat (2,5%) 5—10 Minuten lang,

dann in I: Phenol (2%ig) 15, dazu 1—2 ccm von folgendem, 5 Minuten lang auf dem Wasserbade zu

kochendem Gemisch: Methylenblau 2, Kalium-Karbonat 2, Wasser 200,

oder in Brechweinstein (5%ig) 5—10 Minuten lang,

dann in II: ein Gemisch von 5%igem Alaun 10, 5%igem Indoidinblau BB 20 (resp. besser: Baumwollblau BB) (Anilin- und Sodafabrik E. Merk, Ludwigshafen).

In Flüssigkeit I oder II wird 12—18 Stunden gefärbt, dann in vielem Wasser abgespült; die Schnitte werden mit Filtrierpapier getrocknet mit einer Mischung von Xylol 90 zu 95%igem Alkohol 60, dann mit reinem Xylol behandelt und in Kanadabalsam (unverdünnt durch Erwärmen flüssig gemacht) eingeschlossen. Ist die Färbung zu stark, so entfärbt man mit Unnas Alaun-Anilin (Zeitsch. f. wiss. Mikrosk. Bd. 12, p. 560). Ist mit Mischung 3 fixiert worden, so färbe man mit Methylenblau (obiges Rezept) ohne Beize 24 Stunden, dann Wasser, Xylol-Alkohol etc.; auch Delafieldsches Hämatoxylin färbt in diesem Falle gut.

469. Zur Darstellung des Golgi-Netzes in Ganglienzellen fixiert Kopsch (02) Ganglien in 2%iger Osmiumsäure. Die Netze fangen schon am 5. Tage an, sich zu färben, erreichen aber das Optimum am 8. Tage.

470. Lenhossék (98) und Holmgren (99) empfehlen die unverdünnte Rablsche Lösung (s. § 61); für Nervenzellenfärbung: Toluidin und Erythrosin (wird wie Eosin angewandt), (intrazelluläre Kanälchen).

Um die Kanäle in den Ganglienzellen sichtbar zu machen, wendet Holmgren (01) die folgende Methode an: 1. Fixierung 8—24 Stunden in 5%iger Trichlormilchsäure, 2. Behandlung mit ansteigendem Alkohol von 40, 50, 70, 80, 90% je 24 Stunden, 3. abs. Alkohol und Paraffineinbettung, 4. Schneiden 2—5 μ dick, 5. Färbung nach Weigert (Elastinfärbung § 335), 6. Kanadabalsam.

471. Um grobe Ganglienzellen-Fortsätze und Nervenfaserzüge im Zentralnervensystem darzustellen, ist die alte Methode von Gerlach (71, 72) noch immer zu empfehlen. Schwalbe (01) hat neuerdings darauf aufmerksam gemacht, daß die Färbung in einer lange gestandenen stark verdünnten ammoniakalischen Karminlösung (1 g Karmin auf 100 g Wasser, Salmiakgeist bis zur Lösung eintröpfeln und die Lösung alt werden lassen, bis der Ammoniakgeruch fast schwindet), nur dann gelingt, wenn man die Schnitte vor der Färbung 14 Tage mit Müllerscher Flüssigkeit oder 1—2 Tage mit 1% Chromsäure im Brütofen behandelt; gefärbt wird 24 Stunden.

Ich füge hier im Kleindruck Notizen von Forel (77) bei, welche die Anwendung der Gerlachschen Methode näher behandeln.

Um eine gute Karminfärbung zu erzielen, müssen die Zentralnerventeile in Kaliumbichromat fixiert werden, und man muß peinlichst vor der Färbung den Alkohol vermeiden. — Am schnellsten lassen sich Großhirn, am längsten Medulla und Rückenmark, mittellang Kleinhirn, Pons und oberer Teil der Medulla oblongata fixieren.

Die Fixierungsdauer ist sehr verschieden:

Kanarien- oder Froschhirn in wenigen Wochen fixiert, Menschenhirn und vor allem Menschenrückenmark braucht Monate, ja Jahre und konzentrierte Lösung dazu.

Die Härtungszeit ist durchaus nicht der Größe des Hirnes proportional.

Schimmelbildung wird vermieden durch Härtung im kühlen Keller. Um gute Färbung zu erzielen, muß das Präparat nicht zu wenig und nicht zu viel (spröde) gehärtet sein.

Dünne Schnitte richtig gehärteter Präparate werden

1. einige Stunden in Wasser gewaschen;
2. das Wasser wird durch in der Luft durch langes Stehen neutral gewordene ammoniakalische Karminlösung ersetzt.

NB. Das Färbungsvermögen der Lösung muß erst ausprobiert werden und richtet durch passendes Verdünnen das Färben so ein, daß die Schnitte 12 bis 24 Stunden im Karmin verbleiben.

Die Karminlösung kann unzählige Male gebraucht werden: sie wird mit der Zeit eher besser.

Nach der Tinktion werden die Schnitte mit leicht mit Essigsäure angesäuertem Wasser 1—2 Stunden behandelt; Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Resultate: Gefäßkerne, Körner der Hirnsubstanz, die Ganglienzellen mit allen ihren Fortsätzen (auch dem Nervenfortsatz der großen Zellen), sowie der Achsenzylinder der Nervenfasern, intensiv rot gefärbt. Die Zwischensubstanz ist heller rot oder rosa gefärbt. Die Markscheide der Nervenfasern bleibt ganz weiß oder gelb. Die Kerne und Nucleoli der Zellen sind dunkler gefärbt als das Protoplasma.

Wendet man aber Alkohol vor der Färbung an, so färbt sich das Ganze ganz anders: die Färbung tritt rasch ein und die Zwischensubstanz färbt sich am intensivsten.

472. Für Achsenzylinder bediene man sich folgender Methode von Schmaus, welche Chilesotti modifiziert hat. 1 g karminsaures Natron wird mit 0,1 g Uran. nitr. verrieben, $^1/_2$ Stunde mit 100 ccm Wasser gekocht, filtriert und vor dem Gebrauche angesäuert (2 Tropfen eines 1% salzsauren Alkohols auf 1 ccm Farbe). Vor dem Färben

können die Schnitte mit Müllerscher Flüssigkeit oder Weigertscher Neuroglia-Beize behandelt werden. Man färbt etwa 1 Stunde lang. Ist eine Überfärbung eingetreten, so taucht man die überfärbten Schnitte in $^1/_2$ % salzsauren Alkohol ein.

473. Die Fasern der weißen Substanz lassen sich (in kleinsten Stückchen) mit Silbernitrat behandeln (§ 432) und zeigen dann Frommannsche Linien.

474. Für Rückenmark leistet (Ganglienzellen und grobe Fasern) eine weitere Methode, die ebenfalls von Gerlach (71/72) herrührt, Hervorragendes. Rückenmark vom Kind wird in einer 1—2%igen, doppeltchromsauren Ammoniaklösung 2—3 Wochen lang fixiert, geschnitten und in eine Goldchloridkaliumlösung 1 auf 10,000, welche mit Salzsäure ganz schwach angesäuert ist, auf 10—12 Stunden gelegt. Es werden die Schnitte in $^1/_2$—$^1/_3$ $^0/_{00}$iger Salzsäure gewaschen und kommen in 60%igen Alkohol mit 1 $^0/_{00}$iger Salzsäurelösung auf 10 Minuten.

Nachdem das Präparat durch absoluten Alkohol und Nelkenöl in Kanadabalsam übergeführt ist, sieht man die Nerven erst blaß, nach einigen Stunden sehr deutlich. Die Färbung nach dieser Methode ist aber keine so sichere, und es dunkeln die Präparate oft in Kanadabalsam so nach, daß sie unbrauchbar werden.

475. Ströbe (93) empfiehlt zur Achsenzylinderfärbung im zentralen und peripheren Nervensystem: 10 μ dicke Zelloidinschnitte von in Müllerscher Flüssigkeit 4—5 Monate fixierten Präparaten werden in gesättigter wässeriger Anilinblaulösung 10 Minuten bis $^1/_2$ bis 1 Stunde gefärbt, Abspülen in Wasser, Differenzierung in Ätzkali-Alkohol (1 g Kali caustikum in 100 ccm Alkohol 24 Stunden stehen, davon 20 bis 30 Tropfen auf eine Schale Alkohol), bis sie hellbraunrot geworden sind (eine bis mehrere Minuten), destilliertes Wasser 5 Minuten (hier werden die Schnitte blau), Nachfärbung in konzentrierter wässeriger Safraninlösung, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt ist; $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang. Alkohol absolutus, Xylol, Kanadabalsam. — Resultat: Achsenzylinder blau, Markscheide farblos mit blauen Pünktchen, Schwannsche Scheide rot.

Für Färbung der Ganglienzellen und ihrer Ausläufer in den Zentralorganen hat Golgi folgende Methoden angegeben:

476. Sublimatmethode. Golgi (94) behandelt frische Stücke der Zentralorgane von 1—2 cm Durchmesser 2 bis 3 Wochen lang mit der Müllerschen Flüssigkeit oder mit doppeltchromsaurem Kalium allein, letzteres in von 3 auf 5% ansteigender Lösung. Es kommen weiterhin die Stücke in eine $^1/_4$- bis $^1/_2$ige Sublimatlösung, die oft zu wechseln ist, auf

8—10 Tage und darüber. Sie können nun geschnitten, gut gewaschen und entweder in Glyzerin oder Balsam aufbewahrt werden. Besonders günstig für diese Methode ist die Großhirnrinde. Es sind jedoch die Resultate der Methode nicht konstant, es färben sich, wie auch bei den folgenden Golgischen Methoden, einmal Ganglienzellen, ein anderes Mal die Gliazellen und die Gefäße. Das Gefärbte erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz.

Pal empfiehlt, um die Schnitte reiner zu erhalten, die Nachbehandlung derselben mit Natriumsulfid. Auch die Präparate, die statt mit Sublimat mit Silbernitrat (siehe unten) behandelt worden sind, werden nach Pal mit Vorteil mit Natriumsulfid ($^1/_2$—1 %) abgespült.

477. Cox (90 und 91) empfiehlt folgende Methode: Nicht zu große Stücke der nervösen Zentren werden mit

5 %iger Lösung von Kalium bichromicum	20 Teile
5 %iger Lösung von Sublimat	20 »
Aqua destillata	30—40 »
8 %iger Lösung von chromsaurem Kalium (von starkalkalischer Reaktion) . . .	16 »

2—3 Monate lang im Winter und mindestens einen Monat im Sommer behandelt. Kürzere Behandlung mit Alkohol (Stunden). Bei jungen Tieren geht die Methode besser wie bei erwachsenen (am besten beim einen Monat alten Kaninchen). — Färbt in erster Linie marklose Fasern.

G. Günther (vgl. Schaffer, 96) beläßt die Stücke auf acht Tage in Coxscher Lösung im Thermostat bei Körpertemperatur, wäscht sorgfältig aus, behandelt eventuell länger mit Alkohol und durchtränkt mit Zelloidin. Eine nachträgliche Reduktion der Schnitte in Goldchlorid oder schwacher Ammoniaklösung (zwei bis drei Tropfen auf ein Uhrglas Wasser) durch fünf Minuten macht die imprägnierten Ganglienzellen und Nervenfasern so widerstandsfähig, daß die Schnitte nachgefärbt, allenfalls mit verdünnten Säuren behandelt und unter dem Deckglas eingeschlossen werden können.

478. Eine weitere Methode Golgis (94), bei welcher die Färbung auf Bildung **dichromsauren Silbers** beruht, besprechen wir eingehender, indem wir zunächst dem Autor selbst folgen:

Im Jahre 1875 gebrauchte Golgi seine Methode in folgender Weise: Er fixierte (Bulbus olfactorius) in Müllerscher Flüssigkeit, wobei er den Gehalt an chromsaurem Kali beim Wechseln der Flüssigkeit etwas erhöhte (bis 4 g). Die Fixierung dauerte im Sommer 5—6 Wochen, im Winter 3—4 Monate und darüber. Dann behandelte er Stücke der Objekte (nach 3 Monaten im Winter und nach 30—40 Tagen im Sommer) alle 4—5 Tage probeweise mit Silbernitrat (von $^1/_2$—1 %). Im Sommer dauerte die Versilberung 24, im Winter 48 Stunden. Es ist aber ein längeres Verweilen im Silber zulässig. Diese

Methode ist insofern als eine kapriziöse zu bezeichnen, als man die Zeit des Verweilens der Stücke in der Müllerschen Flüssigkeit ganz genau abpassen muß, da die Zeit der Einwirkung von der Temperatur in Abhängigkeit steht. Ist einmal die Silberreaktion eingetreten, so können die Stücke entweder in der Silberlösung selbst oder in Alkohol weiter aufbewahrt werden. Die Objekte werden geschnitten, in abs. Alkohol ausgewaschen, mit Kreosot aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Die Färbung geht in kurzer Zeit verloren.

Im Jahre 1885 hat Golgi weiteres über seine Methode mitgeteilt, indem er für die Fixierung neben der Müllerschen Flüssigkeit auch das reine doppeltchromsaure Kali empfahl. Es werden 1—1½ ccm große Stücke des Hirns und Rückenmarks, am besten frisch getöteter Tiere, verwendet (mitunter gelingt die Reaktion auch 24—48 Stunden nach dem Tode). Man fixiere in Kaliumbichromat in allmählich steigender Konzentration (von 2—5%) in nicht zu wenig Flüssigkeit und in gut verschlossenen Gefäßen. Selbstverständlich muß die Flüssigkeit oft erneuert und, um Schimmelbildung zu vermeiden, ihr Kampfer oder Salizylsäure zugefügt werden.

Es ist nun sehr schwer zu bestimmen, wann die Fixierung in Kaliumbichromat ihren für die spätere Einwirkung des Silbernitrats günstigsten Zeitpunkt erreicht hat, was von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit in Abhängigkeit steht. Man ist also auch hier auf das Ausprobieren angewiesen. Man kann etwa nach 6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Diese Versuche wiederhole man alle 8 Tage.

Auch hier ist die Silbernitratlösung ¾%ig zu nehmen (etwa ¼ Trinkglas auf 1 ccm Objekt). Zuerst entsteht ein üppiger Niederschlag. Die Silberlösung muß dann gewechselt werden, eventuell nach einigen Stunden noch einmal. Nach 24 bis höchstens 48 Stunden ist die Behandlung gewöhnlich zu Ende, worauf die Schnitte sorgfältig mit absolutem Alkohol entwässert, in Kreosot aufgehellt und ohne Deckglas in Kanadabalsam aufgehoben werden.

Heute sind vor allem zwei Modifikationen der Golgischen Methode gebräuchlich, welche als die langsame und die rasche bezeichnet werden.

479. Bei der langsamen Methode Golgis werden die Stücke zunächst mit einer von 3 auf 5% rasch ansteigenden Lösung von Kalium bichromicum, welches mehrmals gewechselt werden muß, behandelt. Die Dauer der Fixierung hängt von der Temperatur und der Menge der Flüssigkeit ab. Man ist daher auf Ausprobieren angewiesen. Man kann nach 4—6 Wochen bereits Versuche anstellen, um zu sehen, ob die Einwirkung des Silbernitrats gute Erfolge hat oder nicht. Im letzteren Falle wiederhole man

den Versuch alle 8 Tage. Die Stücke werden aus dem Kalium bichromicum in eine $^1/_2$ bis 1%ige salpetersaure Silberlösung übertragen, welche eventuell nach einigen Stunden noch einmal zu wechseln ist. Die Reaktion vollzieht sich meist in 20—30 Stunden. Dieses Verfahren gibt keine konstanten Resultate.

Rascheres Arbeiten gestattet folgende Methode Golgis (94): Die Stücke werden vorbehandelt in 8 Teilen einer 2%igen Kalium bichromicum-Lösung, gemischt mit einem Teil einer 1%igen Osmiumsäurelösung, und dann (schon nach 2—3 Tagen) in eine $^1/_2$ bis 1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen.

480. Ramon y Cajal (94b) hat letztere Methode folgendermaßen modifiziert: Die Stücke kommen auf 3 Tage in 3%ige Kalium bichromicum-Lösung, 4 Vol., 1%ige Osmiumsäurelösung, 1 Vol., und dann auf 1—2 Tage in eine $^3/_4$%ige Silbernitratlösung; nur für sehr kleine Stücke, namentlich für Zentralnervensystem von Embryonen, geeignet.

481. Gelingt die Golgische Methode nicht (dies gilt für alle Modifikationen), so kann man die Präparate in Kalium bichromicum-Osmiumsäure mit etwas schwächerem Osmiumsäuregehalt zurückbringen und nach 24 bis 48 Stunden abermals in Silber übertragen und diese Prozedur eventuell wiederholen.

482. Zur Anwendung des Formols bei der Golgischen Methode verfährt Kopsch (96) folgendermaßen: Kurz vor dem Gebrauch werden zu 40 ccm einer 3,5%igen Kalium bichromat-Lösung 10 ccm Formol gegossen; hierein kommen die Organstückchen, und zwar mehrere je bis zu 2 ccm Substanz auf 50 ccm Flüssigkeit. Bei größeren Stücken ist die Flüssigkeit nach 12 Stunden zu wechseln. Nach 24 Stunden wird die Flüssigkeit durch 3,5%ige Kalium bichromat-Lösung (ohne Formolzusatz) ersetzt. Übertragen in 0,75%ige Silberlösung für Leber, Magen, Netzhaut schon am zweiten Tag, für letztere auch, wie für Zentralnervensystem, nach 3—6 Tagen. Statt Silbernitrat wendet H. Gudden das milchsaure Silber-Aktol an.

483. Es werden die Stücke in 40%igen und dann in absoluten Alkohol übertragen und geschnitten (die Paraffinmethode, in möglichst kurzer Zeit durchgeführt, ist nicht ausgeschlossen). Die Schnitte dürfen in Kanadabalsam eingeschlossen, aber nicht mit einem Deckglase bedeckt werden.

Man überträgt sie deshalb auf ein Deckgläschen in eine dicke Kanadabalsamlösung, welche rasch hart wird. Dieses Deckgläschen wird in ein hölzernes Rähmchen oder in einen durchbohrten Objektträger eingesetzt und die Schnitte von der Seite des Deckglases untersucht.

Weniger empfiehlt sich ein Verfahren, das allerdings rascher zu arbeiten gestattet, nämlich die Schnitte auf den Objektträger ohne Deckglas in Kanadabalsam einzuschließen. Einmal gestattet dies, nur mit schwacher Vergrößerung zu untersuchen, und auch hierbei stört die nie vollständig glatt bleibende Oberfläche der Kanadabalsamschicht.

484. E. Kallius (92) reduziert das chromsaure Silber direkt in metallisches durch den sog. »fünffachen Hydrochinonentwickler« (5 g Hydrochinon, 40 g Na. sulfurosum, 75 g Kalium carbonicum, 250 ccm Aq. dest.). Man nimmt von diesem Präparate 20 ccm auf 230 ccm dest. Wasser. (Diese Lösung hält sich wochenlang gut verschlossen im Dunkeln.) Mit dieser Lösung, welche vor dem Gebrauche mit $^1/_3$ bis höchstens $^1/_2$ des Vol. abs. Alkohol verdünnt wird, werden die Schnitte mehrere Minuten in einem Uhrschälchen behandelt, bis sie dunkelgrau bis schwarz werden. — Um zu kontrollieren, ob die Reduktion vollendet ist, lege man einen Schnitt in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Na., worin alles chromsaure Silber gelöst wird (das reduzierte metallische aber nicht). Um die grauschwarze Färbung der Schnitte zu entfernen, verfahre man also: Aus der Hydrochinonlösung kommen die Schnitte auf 10—15 Minuten in 70%igen Spiritus, dann auf 5 Minuten in 20%ige Lösung von unterschwefeligsaurem Natron und zuletzt in eine größere Schale Aq. dest. auf längere Zeit bis 24 Stunden. Man darf die Schnitte dann entwässern und in Kanadabalsam überführen, oder aber färben (Karmin, Hämatox., Naphthylaminbraun werden vorgeschlagen) und dann in Kanadabalsam einschließen. — Die Behandlung der Schnitte mit Kalilauge oder mit salzsaurem Alkohol ist ebenfalls zulässig.

Zu § 478—484 vergleiche auch Riese (91).

485. Kronthals (99) Methode als Ersatz für die Golgi-Ramon y Cajalschen.

Wenn man in eine wässerige Lösung von Plumbum aceticum langsam Ameisensäure eintröpfelt, so bilden sich feine, weiße Kristallnadeln, die unter allmählichem weiterem Zutropfen von Ameisensäure schließlich das ganze Gefäß

erfüllen. Dieses ameisensaure Blei ist im Wasser viel schwerer löslich als das essigsaure Blei, weshalb auch bei der Reaktion Essigsäure frei wird.

Von dem ameisensauren Blei wird die Flüssigkeit abfiltriert und der Rückstand in Wasser derart gelöst, daß es eine gesättigte wässerige Lösung von ameisensaurem Blei gibt. In ein Gemisch von gleichen Teilen dieser Lösung und einer 10%igen Formalinlösung (also mit 4% Formaldehydgehalt) bringe man jetzt die frischen, d. h. vorher in keiner anderen Flüssigkeit gewesenen Stückchen Gehirn oder Rückenmark für 5 Tage und übertrage sie dann, ohne auszuwaschen, direkt in ein Gemisch von gleichen Teilen 10%iger Formalinlösung und Schwefelwasserstoff-Wasser. (Man gieße von diesem Gemisch, um es nicht durch das Einwerfen der Präparate stark zu färben, vorher etwas über die Stückchen weg.) In dem Schwefelwasserstoff-Wasser-Formalingemisch bleiben die Präparate ebenfalls 5 Tage. Dann überführt man die Stückchen durch steigenden Alkohol in Zelloidin, schneidet, hellt mit Karbol-Xylol auf und hebt die Präparate in Xylol-Kanadabalsam unter Deckglas auf. Die Präparate halten sich unverändert. Die Färbung beruht auf Bildung von Schwefelbleiniederschlägen in den nervösen und Gliaelementen.

486. Corning (1900) teilt mit, daß er die Kronthalsche Methode an in 10%igem Formalin fixierten Material anwendet, jedoch mit folgender Modifikation: statt des ameisensauren Bleis, aus essigsaurem Blei und Ameisensäure hergestellt, wendet er Plumbum formicicum (bezogen von Merck in Darmstadt) an.

487. Semi Meyer empfiehlt folgende Methode: Mittelgroße Stücke werden in 4%iger Formollösung 24 Stunden fixiert, auf 8—20 Tage in $2^1/_2$%ige Ferrocyankaliumlösung gebracht und dann 2—4 Tage lang mit Eisenalaun behandelt. Nachdem man die Stücke wenige Stunden mit destilliertem Wasser gewaschen hat, übertrage man sie in Alkohol und überführe, wie gewöhnlich, durch Xylol in Paraffin. Die Schnitte können beliebig nachbehandelt werden unter Vermeidung von Alkalien, da diese Berlinerblau zersetzen. Die Resultate sind nicht sicher und ähnlich, wie die mit Golgischen Methoden erzielten, es treten aber mitunter Fibrillen in den Ganglienzellen und Nervenfasern gefärbt auf.

488. Bethe (02, 03) gibt die folgende Methode für Darstellung von Neurofibrillen und Golgi-Netzen im Rückenmark und Gehirn auf Schnitten an:

1. Fixierung in 3—7,5%iger Salpetersäure von sp. G. 1,40 24 Stunden. 2. Übertragen direkt in 95%igen Alkohol, dann 3. in Ammoniak (sp. G. 0,95), 1 Teil in 3 Teilen Wasser gelöst auf 24 Stunden, daraus 4. auf einige Stunden in 96%igen Alkohol, dann 5. auf 24 Stunden in Salzsäure (sp. G. 1,18) 1, Wasser 3 und 96%igen Alkohol 8—12 Teile, darauf 6. in 96%igen Alkohol einige Stunden, 7. 2 bis 6 Stunden dest. Wasser, 8. 4%iges Ammoniummolybdat, 9. Alkohol etc. Geschnitten wird in Paraffin, geklebt mit Eiweiß, da Wasser Ammoniummolybdat löst. Die Fixierung darf bei einer Temperatur unter 20° C, wenn man Fibrillen, über 20° C, wenn man Golgi-Netze darstellen will, geschehen.

»Differenzierung: Nachdem die Schnitte durch Alkohol in Wasser gebracht sind, werden sie gut mit destilliertem Wasser abgespült, dann der Objektträger unten gut trocken gemacht, eine Wasserschicht von ungefähr 1—2 cm auf die Schnitte geschichtet und der Objektträger so in den Wärmeschrank gelegt (ca. 60° C). Hier bleibt der Objektträger 2—10 Minuten. Abgießen des Wassers, kurz Spülen, dann Aufschichten einer Toluidinblaulösung (1:3000), 10 Minuten färben bei 58—60° Wärme, Abspülen mit Wasser, Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen, abs. Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. (Für die Haltbarkeit der Präparate ist es sehr wesentlich, daß Xylol und Kanadabalsam ganz wasserfrei sind. Haltbarkeit 3 Monate bis 4 Jahre.)«

489. Apáthy (97) stellt die leitenden Elemente des Nervensystems bei wirbellosen (hauptsächlich Hirudineen) und Wirbeltieren vermittelst einer eigens ausgearbeiteten Goldmethode dar. Man kann a) frische (»Vorvergoldung«) und b) vorher konservierte Objekte (»Nachvergoldung«) mit Gold behandeln. Im ersteren Falle kommen kleinere Objekte, namentlich dünne Membranen, im Dunkeln in eine 1%ige Lösung von Aurum chloratum flavum auf mindestens zwei Stunden, dann ohne Auswaschen in eine 1%ige Lösung von Ameisensäure (spez. Gew. 1,223), worauf sie sofort derart dem Lichte (für 6—8 Stunden) ausgesetzt werden, daß sie von allen Seiten von Lichtstrahlen durchdrungen werden (die Ameisensäurelösung ist eventuell

zu wechseln). Einschließen am besten direkt in Gummisirup oder in konzentriertes Glyzerin.

Bei Nachvergoldung fixiere man bei Wirbeltieren in Sublimat-Osmium (1 Vol. gesättigte Sublimatlösung in $^1/_2$% Kochsalzlösung + 1 Vol. 1%ige Osmiumsäurelösung) 24 Stunden, Waschen in oft erneuertem Wasser, alsdann in wässeriger Jodjodkaliumlösung (1% KJ und $^1/_2$% J) 12 Stunden. Weiter wie nach einfacher Sublimatfixierung. Schließlich wird durch Chloroform mit Paraffin durchtränkt, geschnitten und mit Wasser aufgeklebt. Bis zum Durchtränken mit Paraffin wird im Dunkeln gearbeitet. Durch Chloroform und Alkohol werden die Schnitte in Wasser gebracht, wo sie mindestens 6 Stunden verweilen, oder man spült sie in Wasser ab, bringt sie auf eine Minute in eine 1%ige Ameisensäure, spült abermals in Wasser ab und kann sie dann weiter behandeln. Sie kommen zunächst für 24 Stunden in 1%ige Lösung von Goldchlorid, werden dann kurz in Wasser abgespült, in eine 1%ige Ameisensäurelösung gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Hierzu benützt man Glastuben (s. § 176), in welchen der Objektträger schräg gestellt werden muß, in der Weise, daß die Schnitte nach unten stehen. Unerläßliche Bedingung für das Gelingen des Verfahrens ist eine allseitige Belichtung der Schnitte »bei möglichst intensivem Lichte und möglichst geringer Temperatur«. Man spült sie dann wieder in Wasser ab und überträgt sie in herkömmlicher Weise in Kanadabalsam, oder schließt direkt in konzentriertes Glyzerin oder Gummisirup ein. — Dünne Membranen werden auf eigens hierzu gefertigten Rähmchen von Lindenholz ausgespannt und ebenso wie aufgeklebte Schnitte behandelt. Sind die Präparate gelungen, so erscheinen die Neurofibrillen dunkelviolett bis schwarz. Als besonders geeignetes Material werden bei Wirbeltieren die großen Ganglien des Rückenmarks von Lophius, des Kalbes etc., empfohlen.

490. Viel sicherer für Wirbeltiere sind die nun folgenden Methoden von R. y Cajal: Um Fibrillen in kleinen und mittelgroßen Nervenzellen darzustellen, legt R. y Cajal (03, 04) ca. 3 mm große frische Stücke auf 3 Tage in 0,75—3% Silbernitratlösung bei 30—35° C ein, größere Objekte (z. B. Rückenmark des Kaninchens) kommen auf 5 Tage in dieselbe Lösung. Die Stücke werden 1 Minute in destilliertem Wasser gewaschen und dann in die Reduktionsflüssigkeit: 1—2 Pyrogallussäure oder Hydrochinon,

Formol 5 ccm, destilliertes Wasser 100 auf 24 Stunden übertragen, dann wieder einige Minuten mit dest. Wasser gewaschen und in Zelloidin eingebettet. Paraffineinbettung ist nicht ausgeschlossen, nur werden die Schnitte brüchig. 0,75%ige Lösungen von Silbernitrat verwendet man für Embryonen und neugeborene Tiere, 3%ige für erwachsene Säugetiere. Resultate: Fibrillen in Zellen und Fasern, Neuroglia aber nicht, werden bei allen Wirbeltierklassen, Embryonen wie Erwachsenen, dargestellt.

Um Achsenzylinder markhaltiger Fasern und Neurofibrillen großer Zellen zu imprägnieren, fixiert man die Objekte in 96% Alkohol 24 Stunden, behandelt dann mit einer 1% Silbernitratlösung bei 30—35° C 4 Tage. Nach ganz kurzem Abspülen in dest. Wasser kommen die Stücke in Hydrochinon 2, Wasser 100, Formol 5 auf 24 Stunden; weitere Behandlung wie vorhin. Resultate: Achsenzylinder kaffeeschwarz, Neurofibrillen braun, Körbe der Purkinjeschen Zellen braun. Ist die Farbe zu schwach ausgefallen, so behandelt man die Schnitte kurze Zeit mit der Lösung: sulfocyansaures Ammonium 3 g, unterschwefligsaures Natrium 3 g, Goldchlorid 1%, einige Tropfen auf 100 Wasser.

Für marklose Fasern und Endverzweigungen modifiziert man die vorhergehende Methode, indem man in Alkohol 3 Tage härtet, sonst aber gleich verfährt.

Um Neurofibrillen grosser Zellen und feine Nervenfasern zu färben, kann man auch in 96% Alkohol mit Zusatz von 0,5—1% Ammoniak (für größere Stücke 1,5%) 24—36 Stunden härten, in dest. Wasser waschen, mit 1,5% Silberlösung 3—5 Tage bei 30—35° C behandeln und in 2% Hydrochinonlösung mit 5% Formolzusatz 24 Stunden reduzieren. Weitere Behandlung wie vorher. — Statt Alkohol kann man als Härtungsflüssigkeit: Formol 20, Wasser 100, Ammoniak 0,5 24 Stunden verwenden; in diesem Falle muß vor dem Versilbern 12 Stunden lang in fließendem Wasser gewaschen werden. Diese letztere Methode eignet sich für Färbung von Nervenendigungen, man wendet aber eine 3%ige Silberlösung an. — v. Lenhossék empfiehlt als Nachbehandlung der Schnitte Goldchloridlösung 5—30 Minuten (4 ccm einer 1%igen Goldlösung auf 150 ccm Wasser). Die Fibrillen erscheinen dann schwarz auf farblosem Grunde.

Zum Zwecke der Darstellung der markhaltigen Fasern im Zentralnervensystem verdanken wir Weigert eine Reihe von Methoden, von denen wir folgende erwähnen:

491. Die ursprüngliche Weigertsche Hämatoxylinmethode bestand in folgendem: Schnitte in Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit fixierter (nicht mit Wasser ausgewaschener) Präparate, die braun, aber nicht grün sein dürfen (Zelloidindurchtränkung), kommen in eine Hämatoxylinlösung:

1 g Hämatoxylin,
10 g Alkohol und
90 ccm Wasser

(vor dem Gebrauch muß die Lösung einige Tage stehen bleiben) auf 3 Stunden im Thermostat, welcher auf ca. 30 bis 45° C erwärmt ist; entsprechend länger (1—2 Tage) bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die schwarz gewordenen Schnitte werden oberflächlich mit destilliertem Wasser abgespült und in

Borax . . . . . 2 g
Ferridcyankalium . . $2^1/_2$ g und
Wasser . . . . . 100 g übertragen.

In dieser Flüssigkeit vollzieht sich die gewünschte Differenzierung, und zwar in der Weise, daß die graue Substanz gelb wird und die weiße dunkel bleibt. Unter Umständen erreicht man diese Differenzierung erst nach Stunden. Sämtliche Markscheiden erscheinen alsdann schwarz, die übrigen Elemente gelb bis bräunlich.

492. Ferner erwähnen wir folgende von Weigert angegebene Methode: Die (Fixierung wie in § 491) mit Zelloidin durchtränkten und auf Kork, resp. Holz, befestigten Stücke (siehe § 87 und 88) kommen in eine neutrale essigsaure Kupferoxydlösung (eine gesättigte Lösung des Salzes wird mit gleichem Volumen Wasser verdünnt) in einen Thermostat bei 40° C auf ein- bis zweimal 24 Stunden; die Stücke sehen nun dunkelgrün aus und der Zelloidinmantel hellgrün. Nach dieser Prozedur können die Stücke in 80%igem Spiritus bis zum Schneiden aufbewahrt werden. Sind die Schnitte angefertigt, so kommen sie in folgende Hämatoxylinlösung (Weigertsches Hämatoxylin):

1 g Hämatoxylin
10 ccm absoluter Alkohol
90 ccm Wasser und
1 ccm gesättigtes Lithium carbonicum in Wasser.

Vor dem Gebrauche wird der Farbe Essigsäure (einen Tropfen auf ein Uhrschälchen) zugesetzt.

In dieser Flüssigkeit verbleiben die Schnitte, je nach dem Objekt, 2—24 Stunden (bei schwer sich färbenden Objekten auch im Thermostat bei 40° C) und kommen dann in die Differenzierungsflüssigkeit, welche dieselbe wie bei der eben

erwähnten Weigertschen Hämatoxylinmethode geblieben ist, d. h.

2 g Borax
2½ g Ferridcyankalium auf
100 ccm Wasser.

Der Prozeß der Differenzierung dauert lange, mitunter Tage, und darf nicht eher unterbrochen werden, bis die weiße Substanz dunkel und die graue hell geworden ist.

493. Das neuere Verfahren von Weigert (91) ist scheinbar komplizierter, führt aber desto sicherer zum Ziel. Die Vorbehandlung bleibt dieselbe. Nachdem die mit Zelloidin durchtränkten Stücke in 80%igem Spiritus fest geworden sind, kommen sie, auf folgender Mischung schwimmend, in den Brütofen: eine kaltgesättigte, wässerige Lösung von Cuprum aceticum neutrale und Tartarus natronatus (Seignettesalz) 10%ige wässerige Lösung zu gleichen Teilen. Größere Stücke, wie z. B. Pons Varoli des Menschen, können länger als 24 Stunden in der Lösung verbleiben. In diesem Falle wird sie nach 24 Stunden gewechselt. In keinem Fall verbleiben die Stücke in der Lösung länger als 48 Stunden; die Temperatur im Thermostaten darf keine hohe sein, sonst werden sie brüchig. Dann werden die Objekte auf einer wässerigen, entweder gesättigten oder halb mit Wasser verdünnten gesättigten Lösung von Cuprum aceticum neutrale schwimmend, abermals auf 24 Stunden, in den Brütofen gebracht. Dann werden sie flüchtig mit destilliertem Wasser abgespült und in 80%igen Spiritus übertragen, in welchem sie schon nach einer Stunde schnittfähig sind, können aber in demselben auch länger aufgehoben werden. Es wird in der gewöhnlichen Weise geschnitten. Als Färbemittel bereite man sich folgende Lösungen: a) Lithion carbonicum, eine gesättigte wässserige Lösung = 7 ccm und 92 ccm Aq. dest.; b) Hämatoxylin 1 g und Alk. abs. 10 ccm; a und b halten sich längere Zeit, und kann man beide Lösungen in unverändertem Zustande vorrätig halten. Kurz vor dem Gebrauch werden 9 Teile a und 1 Teil b miteinander gemischt. Nach 4—5 Stunden bei Zimmertemperatur sind die in dieser Mischung gelegenen Schnitte gefärbt, aber auch nach 24stündigem Aufenthalt in der Farbe nicht überfärbt. Für lose, nicht angeklebte Zelloidinschnitte ist die Differenzierungsflüssigkeit überflüssig, und kann diese Methode infolgedessen mit großem Vorteil gerade dort gebraucht werden, wo graue und weiße Substanz makroskopisch nicht

unterschieden werden können und wo infolgedessen die Beurteilung der Differenzierung auf makroskopischem Wege erschwert oder überhaupt unmöglich ist. Die Schnitte werden schließlich mit Wasser abgespült, mit 90%igem Alkohol behandelt, mit Karbol-Xylol oder Anilin-Xylol aufgehellt (in letzterem Fall sorgfältig mit Xylol gewaschen) und in Xylol-Balsam eingeschlossen. Die markhaltigen Fasern erscheinen dunkelblau bis schwarz, der Grund hell bis hell-rosa und die Zelloidinwand manchmal bläulich. Will man letztere Farbe entfernen, so braucht man nur statt mit gewöhnlichem Wasser mit einer 1/2%igen Essigsäure auszuwaschen, was jedoch bei sehr zarten Objekten, z. B. bei der Großhirnrinde, nicht empfehlenswert ist.

Bei der Anwendung der Weigertschen Methoden wird eine Schnittdicke vorausgesetzt, die nicht 1/40 mm übertrifft, weil bei dickeren Schnitten die Markscheiden sich nicht genügend deutlich von dem nicht ganz farblosen Untergrunde abheben.

Will man auch diese Färbung des Randzelloidins entfernen, so nimmt man statt des zweiten Auswaschwassers eine 1/5 bis 1/2%ige Essigsäure. (Dann Wasser, Alkohol.) Bei zarten Präparaten (z. B. Großhirnrinde) ist die Essigsäurebehandlung, wie schon gesagt, zu vermeiden.

494. Die **Palsche** (86) **Methode** (die Färbung ist sehr präzis, aber nicht so intensiv wie bei der Weigertschen Methode, und deshalb ist sie namentlich für dicke Schnitte zu empfehlen) ist nichts anderes als eine modifizierte Weigertsche. Die Fixierung ist wie bei der eben erwähnten Methode; die Schnitte kommen entweder gleich in Hämatoxylin oder, wenn sie nicht genügend braun sind, den Stich ins Grüne zeigen, auf einige Stunden in 1/2%ige Chromsäure, resp. in eine 2 bis 3%ige Kalium bichromicum-Lösung. Es werden nun die Schnitte in eine der folgenden Hämatoxylinlösungen übertragen, entweder Weigertsches Hämatoxylin (siehe § 492) oder

0,75 g Hämatoxylin
10 g Alkohol
90 ccm Wasser, unter Erwärmen lösen und

2 ccm einer gesättigten wässerigen Lithium carbonicum-Lösung hinzufügen. Nach mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur überträgt man die Schnitte in 1/4%ige wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung, die frisch bereitet werden muß, auf 20—30 Sekunden, und darauf in

Oxalsäure	1
Kalium sulfurosum	1 und
Wasser	200,

in welcher Flüssigkeit sich die Differenzierung vollends vollzieht, so daß makroskopisch die graue Substanz farblos und die weiße dunkel erscheint; sämtliche Markscheiden sind alsdann dunkelblau, alles übrige farblos. Ein Nachfärben mit anderen Farben, wie z. B. mit Eosin, Alaunkarmin usw., ist nicht ausgeschlossen.

Auch folgender Weg führt zum Ziele:

Die Schnitte werden mit Erlickischer Flüssigkeit 1 bis 2 Stunden bei einer Temperatur von 40—50° behandelt, sie bleiben nach einem ganz oberflächlichen Abspülen mit Wasser in

Hämatoxylin	1 g
Alkohol abs.	10 g und
Wasser	90 ccm

ebenfalls 2—3 Stunden bei der eben angegebenen Temperatur; dann werden sie mit unterchlorigsaurem Natron (einige Tropfen einer Lösung mit 2%igem Chlorgehalt auf eine Uhrschale mit Wasser) behandelt, in welcher Flüssigkeit sich direkt die Differenzierung unter den Augen des Beobachters in kurzer Zeit vollzieht, in der Weise, daß die Markscheiden gefärbt bleiben und alles übrige entfärbt wird. Auch verdünnte Aqua Javelli kann als differenzierende Flüssigkeit analog angewandt werden.

Hat man nach irgend einer der zitierten Methoden die Differenzierung der grauen und weißen Masse erlangt, so werden die Schnitte sorgfältig mit destilliertem Wasser abgespült, entwässert und eingeschlossen.

Die letzt vorgetragene Methode hat Heilmeyer für die Darstellung der Gallenkapillaren in der Leber vorgeschlagen.

495. Wie Weigert (95 und 94) nachgewiesen hat, ist seine Färbung auch nach Fixation nicht nur in Müllerscher, Marchischer Flüssigkeit, sondern auch in Formol möglich. Die Prozedur ist dann die folgende:

Einbetten in Zelloidin.

Schneiden (nicht kupfern!).

Chromsäure 1%; erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen, vorher gut ausbreiten.

Abspülen in Wasser.

Färbung in Weigertschem Hämatoxylin unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen.

Wasser. — Differenzierung nach Pal. Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak (wenn braun) oder Lithium carbon. (wenn blau) zugesetzt sind. — Einschließen.

Dieses Vorgehen ist ein viel kürzeres als das früher von Weigert angegebene.

496. Beliebig große Stücke werden nacheinander in 5 bis 10%iger Formollösung und 96%igem Alkohol behandelt und in Zelloidin geschnitten. Die Schnitte kann man in Methylenblau (für Nißl), Thionin (v. Lenhossék) usw. verwerten; aber wenn man die Schnitte in 0,55%iger Chromsäure ca. 10 Stunden beizt, mit Wasser abspült und kurz mit 80%igem Spiritus behandelt, kann man nach Pal färben; die Schnitte verhalten sich wie nach Müller. Besonders gelingt die Färbung, wenn man zu Weigertschem Hämatoxylin einige Tropfen verdünnter Salpetersäure zufügt. Minnich. Gudden (97).

497. Noch einfacher scheint folgende Markmethode, welche durch Kultschitzky (90) angegeben wurde, zu sein:

Objekte aus Müllerscher oder Erlickischer Flüssigkeit werden mit Zelloidin durchtränkt, geschnitten und die Schnitte in die Hämatoxylinlösung übertragen:

1 g Hämatoxylin wird in ein paar ccm Alkohol vollkommen gelöst und zu 100 ccm einer 20%igen wässerigen Borsäurelösung hinzugefügt. Diese Hämatoxylinlösung wird vor dem Gebrauch mit 2—3 Tropfen Essigsäure auf ein Uhrschälchen angesäuert. Oder noch einfacher:

Man löse 1 g Hämatoxylin in ein paar ccm Alkohol und füge hinzu 100 ccm einer 2%igen wässerigen Essigsäurelösung.

Es erscheinen nach 24 Stunden sämtliche Markscheiden dunkelblau, alles übrige fast ungefärbt mit einem Stich ins Rötliche. Das nachträgliche Behandeln mit der Weigertschen Differenzierungsflüssigkeit (§ 492) führt jedoch sicherer zum Ziele.

498. Nach Kultschitzky (87b) und Wolters (90) geben wir folgende Methode zur Mark- und Achsenzylinderfärbung an:

a) Kultschitzky: In 50%igen Alkohol bringt man ad libitum feingestoßenes doppeltchromsaures Kalium und schwefelsaures Kupferoxyd. Nach 24 Stunden löst sich ein Teil dieser Salze in absoluter Dunkelheit auf. Vor dem Gebrauch wird diese Flüssigkeit mit Essigsäure, 5—6 Tropfen auf 100 ccm, angesäuert. — Je nach der Größe werden die Objekte 12 bis 24 Stunden im Dunkeln fixiert und dann in starken Alkohol übertragen. Nach abermals 12—24 Stunden können dieselben geschnitten werden.

b) Wolters: Die mit der Kultschitzkyschen Flüssigkeit fixierten Stücke werden in Zelloidin möglichst dünn geschnitten (5—10 μ) und dann auf 24 Stunden in folgende Beize übertragen:

10%iges Vanadium chloratum	2 Teile
8%iges Aluminium aceticum liquidum .	8 »

Nach kurzem (10 Minuten) Abwaschen mit Wasser kommen die Schnitte in die Hämatoxylinlösung von Kultschitzky:

Hämatoxylin 2,0 (alkoholische Lösung)
2%ige Essigsäure —100
eventuell ein paar Tropfen Osmiumsäure (Kaes, 91)

auf 24 Stunden (bei 30°) und werden dann in 80%igem salzsäurehaltigem Alkohol entfärbt, bis die Schnitte einen hellen blauroten Ton zeigen. Übung beim Entfärben ist erforderlich.

499. Azoulay (94) empfiehlt für die Färbung der Markscheiden, namentlich im Zentralnervensystem, folgende Methode: Man fixiere die Stücke in Müllerscher Flüssigkeit, wasche 1—2 Tage in Wasser aus, durchtränke mit Zelloidin und schneide. Möglichst dünne Schnitte werden kurze Zeit mit Wasser gewaschen und in eine 1—2‰ige Osmiumsäure auf 5—15 Minuten übertragen, dann abermals mit Wasser kurz gewaschen. Nun kommen die Schnitte in eine 5—10%ige Tanninlösung und werden auf 50—55° C ca. 5 Minuten (2—5) erwärmt, wobei die gewünschte Färbung aufzutreten pflegt. Man wasche jetzt ordentlich mit Wasser aus, färbe eventuell mit Karmin oder Eosin nach und überführe die Schnitte durch Alkohol, Xylol in Kanadabalsam. Sind die Schnitte zu dick geraten, so wende man nach der Tanninbehandlung die Palsche Flüssigkeit (hypermangansaures Kalium 0,25%ig, Waschen mit Wasser, schwefelsaures Kalium 1%ig + Oxalsäure 1%ig zu gleichen Teilen [vor dem Gebrauch zu mischen]) oder auch aq. Javelli 1 auf 50 Wasser an und fahre wie oben weiter fort. — Die Zeitdauer der Entfärbung mit Palscher Flüssigkeit oder aq. Javelli ist nicht anzugeben, vielmehr muß mit dem Mikroskop kontrolliert werden.

Sind die Stücke in einem osmiumhaltigen Gemisch (Flemmingsche Lösung, Osmiumbichromat von R. y Cajal, Marchische Flüssigkeit etc.) gewesen, so überträgt man die Schnitte aus dem Wasser in 5—10%ige Tanninlösung und verfährt im übrigen wie oben.

Auf dieselbe Weise kann man auch Fett in beliebigen Organen färben.

500. Flechsig (76) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bei Embryonen, Föten und jungen Tieren Nervenbahnen nicht gleichzeitig markhaltig werden, und darauf eine Methode für das Studium des Faserverlaufs im Zentralnervensystem gegründet.

501. Färbemethode nach Marchi (85):

1. Müllersche Flüssigkeit 8 Tage. 2. Möglichst kleine Stücke kommen ohne Auswaschen in: Müllersche Flüssigkeit 2 + Osmiumsäure 1%ig 1 Teil 5—8 Tage. 3. Auswaschen (einige Tage). 4. Zelloidin etc.

Die degenerierenden (nicht die degenerierten) Fasern werden schwarz, alles andere leicht gelb. Vgl. Weigert (98).

Da bei der Marchischen Färbung bloß kleine Gehirnstücke sich gut färben, weil sonst schwarze Schollen an solchen Stellen sich ablagern, die nicht degeneriert sind, empfiehlt Teljatnik (97) zur Beseitigung dieser der Methode anhaftenden Mängel folgende Modifikation: Es werden $1\frac{1}{2}$ cm dicke Stücke vom Nervensystem in eine Müllersche Lösung eingelegt, dann gelangen sie in Chromosmiumlösungen, deren Konzentration allmählich gesteigert wird; zuletzt werden die Präparate mit hypermangansaurem Kalium und mit Oxalsäure behandelt (wie in der Palschen Methode); bei dieser Behandlung sollen diejenigen schwarzen Schollen, die keine Degenerationsprodukte sind, verschwinden.

502. Weigerts (95) Neurogliafärbung:

1. Fixierung (und Beizung).

Diese beiden Prozeduren kann man getrennt oder vereint vornehmen. Man trennt sie, wenn man die Präparate auch nach anderen Methoden, z. B. der Marchischen, Golgi-, Nißl- oder Markscheiden-Methode, behandeln will. In diesem Fall Fixation mit Formol 1 : 10. Stücke nicht über einen halben Zentimeter dick! Material möglichst frisch. Große Schalen mit Fließpapier belegt. Die Flüssigkeit ist nach dem 1. Tage zu wechseln; etwa 4 Tage genügen zur Fixierung. Die so fixierten Stücke können jahrelang, ohne Nachteil für die Neurogliafärbung, aufbewahrt werden.

2. Beizung (siehe Merkel-Bonnet, Ergebnisse. 1894). Besonders zu empfehlen ist:

5% essigsaures Kupferoxyd
5% gewöhnliche Essigsäure
$2\frac{1}{2}\%$ Chromalaun in Wasser.

Hierbei ist zu beachten: der Chromalaun wird zuerst in Wasser gekocht, dann werden die beiden anderen Komponenten zugesetzt, und zwar zuerst die Essigsäure und dann das feingepulverte neutrale essigsaure Kupferoxyd. Man rührt gehörig um und läßt erkalten.

In diese Lösung, welche auch für Markscheidenfärbung zu empfehlen ist, kommen die in Formol fixierten Stücke auf 4—5 Tage bei Brutofentemperatur oder bei Zimmertemperatur etwa 8 Tage. Will man nur die Neuroglia gefärbt erhalten, so ist es besser, die frischen, nicht über $\frac{1}{2}$ cm dicken Stücke mit Umgehung des einfachen For-

mols direkt in jene Kupferchromalaunlösung zu bringen, der man dann 10% Formol zusetzen muß. Wechseln der Flüssigkeit!

Zum Schneiden werden die Stücke mit Wasser abgespült, in Alkohol entwässert und mit Zelloidin durchtränkt.

Die Schnitte kommen auf etwa 10 Minuten in eine 1/3%ige Lösung von Kalium hypermanganicum, dann Auswaschen durch Aufgießen von Wasser, dann Verbringen der Schnitte in die Reduktionsflüssigkeit (5% Chromogen und 5% Ameisensäure [spez. Gewicht 1,20] in Wasser). Man filtriert sorgfältig. Vor dem Gebrauch setzt man zu 90 ccm dieser Flüssigkeit 10 ccm einer 10%igen Lösung von Natriumsulfit (einfach schwefligsaures Natron). Schon nach wenigen Minuten sind die durch Kalium hyperm. gebräunten Schnitte entfärbt, aber man läßt sie zweckmäßiger noch 2—4 Stunden in der Lösung. Will man das Bindegewebe farblos erhalten, so kann man jetzt die Vorbereitungen für die Färbung abschließen; wenn nicht, und man will das Bindegewebe und das Nervöse in der Kontrastfarbe tingieren, so bringe man die Schnitte nach dem Abgießen der Reduktionsflüssigkeit und nach zweimaligem Aufgießen von Wasser in eine gesättigte, wässerige Chromogenlösung (5% Chromogen in Aqua destillata). Man filtriere sorgfältig! In dieser Lösung bleiben die Schnitte über Nacht, je länger, desto intensiver die Kontrastfärbung des Nervensystems, dann gießt man wieder zweimal Wasser auf, und nun sind die Schnitte fertig zur Färbung.

3. Färbung; diese ist eine modifizierte Fibrinfärbung, s. § 318. Die Jodjodkaliumlösung ist unverändert (gesättigte Lösung von Jod in 5%iger Jodkaliumlösung). Statt der üblichen Gentianaviolettlösung benutzt man aber eine heißgesättigte und nach dem Erkalten von dem Bodensatz abgegossene alkoholische Lösung (70—80% Alkohol) von Methylviolett. Dieser Lösung setzt man auf je 100 ccm 5 ccm einer 5%igen wässerigen Oxalsäurelösung zu. Die Anilinölxylollösung ist nicht im Verhältnis von 2 Anilinöl: 1 Xylol, sondern 1 : 1. Im übrigen ist die Färbung wie bei der Fibrinmethode, die Reaktionen gehen sehr rasch vor sich. Schnittdicke nicht über 20 μ.

503. Bartel schlägt folgende Modifikation vor: er bettet Objekte statt in Zelloidin in Paraffin und behandelt die Schnitte ohne das Paraffin zu entfernen bis Jodjodkalium inklusive, dann wäscht er die Schnitte gut mit

destilliertem Wasser, trocknet sie bei 38° C und überträgt sie in Anilinöl-Xylol (1 zu 10 bis 1—100); hier löst sich Paraffin und die Differenzierung geht nur sehr langsam, 12 bis 24 Stunden, vor sich. Nach dieser Methode kann Neuroglia auch am Material von Leichen bis 36 Stunden nach dem Tode gefärbt werden. — Bartel gibt annähernd die Zeiten an, welche für Paraffinschnitte, welche nach der Weigertschen Glia-Methode gefärbt, angewendet werden sollen: Kalium hypermanganicum $^1/_3$% $^1/_2$—1 Stunde; Chromogen-Ameisensäure-Natriumsulfitlösung 6—12 Stunden: alkoholische Methylviolettlösung 12—24 Stunden; Jodjodkalium $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde.

Weitere Literatur für Kapitel 8: Dejerine 95, Lenhossék 95, Obersteiner 01, Pollack 98, Weigert 94 und 95, Nißl 03.

9. Kapitel.

Herz, Blutgefäfse und deren Verteilung, Lymphgefäfse und Saftkanäle.

504. Um die Anordnung und die gegenseitige Lage der verschiedenen Gewebsteile, welche die Herzwand zusammensetzen, kennen zu lernen, ist es nötig, Schnitte durch die Herzwand anzufertigen, die man in beliebiger Weise (Müllersche Lösung, Chromsäure, Alkohol etc.) fixiert und weiter behandelt hat. Für die Isolation von Zellen der Purkinjeschen Fäden, glatten und Herzmuskelzellen, verfahre man nach § 418 ff.

505. Das Endo- und Perikard können (siehe § 270) versilbert, mit der Pinzette abgezogen (oder durch Flächenschnitt mit dem Rasiermesser als dünne Lamelle abgetragen) und in Glyzerin eingeschlossen werden.

506. Größte und große Gefäße fixiere man beliebig und schneide sie in Zelloidin. Färbung für elastische Fasern mit der Orceïnmethode (siehe § 336) und der Weigertschen Methode (siehe § 335), für Bindegewebe nach § 223, 224, 225 und 330.

507. Die Media dieser Gefäße wird mit Kali- (Natron-) lauge, $^1/_3$ Alkohol (24 Stunden und länger) oder einer 1%igen Weinsäure einige Stunden behandelt; es lassen sich nach dieser Vorbehandlung **elastische** Elemente — **Platten, Netze und Fasern** durch sorgfältiges Spalten und Zupfen stellenweise isolieren.

508. Mittlere Arterien und Venen werden geschnitten und mit Pikrokarmin (§ 215 oder 332) z. B. tingiert (Muscularis).

509. Kleine und kleinste Gefäße (ohne vasa vasorum mit einer dünnen [aus einer Reihe Muskelelemente bestehenden] Muskulatur, in der Arterie zirkulär und der Vene der Länge nach verlaufend) studiert man sehr bequem an Zupfpräparaten der weißen, resp. grauen Substanz des Zentralnervensystems, wo sie als willkommene Nebenbefunde erscheinen. Dieselben, aber auch die kleinsten der mittleren studiere man an Schnitten durch verschiedene Organe, vornehmlich an denen der Lunge, die in der Nähe des Hilus derselben gewonnen wurden.

510. Man kann die Kapillaren und allenfalls kleine Arterien und Venen an etwas nachgedunkelten, versilberten (siehe § 270) dünnen Lamellen, die z. B. mit Hämatoxylin nachgefärbt worden sind, untersuchen.

Noch bessere und sicherere Resultate für die Untersuchung derselben Objekte erhält man, wenn man einem durch Chloroform getöteten Frosch z. B., den man durch Abschneiden der Herzspitze verbluten ließ, eine dünne (1—5‰ige) Silbernitratlösung, oder Silber-Gelatine, § 513, in die Gefäße einspritzt, bis das ganze Gefäßsystem gefüllt ist (Frosch 10—15 ccm). Von so vorbehandelten Fröschen können Mesenterien, Lungenalveolen, Harnblase entnommen, abgespült, mit Alkohol fixiert und eingeschlossen werden; solche Präparate zeigen außer den Endothelgrenzen die Grenzen der glatten Muskeln.

511. Nicht injizierte Kapillaren kollabieren in dem Maße, daß man sie oft in Schnitten nicht erkennen kann. Um die Verbreitung derselben zur Anschauung zu bringen, **injiziert man die Gefäße.**

Die Injektionstechnik ist zu einem besonderen, umfangreichen Zweige der mikroskopischen Technik herangewachsen. Wir sehen von der Schilderung der Injektionsapparate, Technik des Einführens und Befestigens der Kanüle etc. ab und begnügen uns mit der Angabe zweier wohlerprobter Injektionsmassen: einer roten und einer blauen.

512. Es ist dies zunächst die Gelatine-Karminlösung. Sie wird folgendermaßen hergestellt: Man bereite sich einen Karminbrei (etwa 4 g Karmin und 8 ccm Wasser). Zu diesem Karminbrei gieße man so viel Ammoniak hinzu,

wie nötig ist, um den Karmin in Lösung zu bringen, was daran zu erkennen ist, daß das Ganze lackfarben wird. Anderseits lege man etwa 50 g Gelatine in destilliertes Wasser und lasse sie darin etwa 24 Stunden aufquellen. Ist die Gelatine aufgequollen, so erwärme man dieselbe, nachdem man das Wasser mit den Händen ausgepreßt hat, auf dem Wasserbade auf etwa 60° C und sorge dafür, daß die Gelatine nicht überwärmt werde; ist sie geschmolzen, so füge man unter beständigem Umrühren so viel von dem Karminbrei hinzu, als nötig ist, um eine bestimmte Farbenintensität zu erzielen. Man mische sorgfältig mit einem Glasstabe, bis sich der Karmin gleichmäßig in der Gelatinemasse verteilt hat. Nun tröpfle man in diese Lösung eine etwa 25%ige Essigsäurelösung unter beständigem Umrühren hinzu, bis die dunkel-kirschrote Lackfarbe in eine ziegelrote überzugehen anfängt. Ist das der Fall, so ist die Masse neutral, und man filtriere sie durch Flanell.

Die Masse wird in warmem Zustande einem vorher auf 37—38° C in warmem Wasser gewärmten, durch Massieren vor Einbinden der Kanüle möglichst blutleer gemachten Tiere injiziert (bei Amphibien genügen schon ca. 30° C). Die so injizierten Stücke werden in Spiritus fixiert.

Will man kleine Tiere ganz injizieren, so empfiehlt es sich, die Kanüle durch das linke Herz in die Aorta einzuführen und so einzubinden, oder, bei größeren Tieren, resp. bei genauer auszuführenden Injektionen, indem man in eines der zuführenden Gefäße des zu injizierenden Organes die Kanüle einführt. Eine passende Unterbindung einiger der übrigen Gefäße ist zu berücksichtigen usw. Man injiziere langsam unter geringem Druck.

513. Das im Wasser lösliche **Berlinerblau**, Ranvier (89), in einer im Wasser gesättigten Lösung zu der wie in § 512 hergestellten Gelatine in der Wärme hinzugesetzt, liefert eine blaue Injektionsmasse. Hat man kein lösliches Berlinerblau, so kann man es sich in folgender Weise beschaffen (nach Ranvier): Man gieße gelbes Blutlaugensalz und Ferrosulfat in bestimmten Proportionen zusammen, es bildet sich ein blauer Niederschlag von unlöslichem Berlinerblau. Man filtriere die Flüssigkeit, und die blaue pulverige Masse bleibt auf dem Filter. Nun wasche man die auf dem Filter gebliebene Masse mit Wasser, bis das Filtrat blau gefärbt erscheint. (Es dauert unter Umständen 24 Stunden und länger.) Das unlösliche Berlinerblau ist

nun löslich geworden, und die auf dem Filter gebliebene breiige Masse kann getrocknet und als lösliches Berlinerblau benutzt werden.

Die mit Berlinerblau injizierten Stücke lassen ein nachheriges Fixieren mit Chromsäure, chromsauren Salzen etc. zu.

Blaß gewordene Stücke (oder Schnitte) erlangen ihre blaue Farbe in Nelkenöl wieder.

Behandelt man die mit Berlinerblau injizierten Stücke oder Schnitte mit einer Palladiumchlorürlösung, so geht die blaue Farbe in eine tiefbraune über, und diese Farbe bleibt unverändert (Kupffer).

Fertige Injektionsmassen sind durch Grübler und Co. zu beziehen.

514. Gelatine, welche bei Zimmertemperatur flüssig bleibt, kann man nach Tandler durch Jodkaliumzusatz folgenderweise gewinnen: Man löst 5 g Gelatine in 100 g Wasser unter leichtem Erwärmen, fügt dann, je nach Bedarf, ob man eine dunkler oder heller gefärbte Masse herstellen will, Berlinerblau ein und setzt zuletzt langsam, unter Umrühren eintragend, 5 g Jodkalium hinzu. Die so gewonnene Masse ist bei 17° C flüssig. Setzt man noch mehr Jodkalium zu, so kann man die Masse bei noch tieferen Temperaturen flüssig erhalten.

515. Grosser empfiehlt als kalte Injektionsmasse filtriertes Hühnereiweiß, welches mit Tusche verrieben wird.

516. Es ist vor Jahren von Altmann (79) ein Verfahren vorgeschlagen worden, das in folgendem besteht:

Man injiziert Gefäße (z. B. der Niere, Iris, Chorioidea, Retina, Haut) mit Olivenöl; so injizierte Organe werden mit Osmiumsäure (siehe § 38) behandelt, wobei sich die injizierten Gefäße schwarz färben. Die nicht durchsichtigen massigen Organe können auf einem Gefriermikrotom in dünne Scheiben zerlegt werden, worauf sie ebenfalls in Osmiumsäure (1% auf 24 Stunden) kommen. Es werden dabei die mit Öl gefüllten Gefäße schwarz. Diese mit Osmiumsäure fixierten schwarzen Ölstränge (Gefäße) sind so widerstandsfähig geworden, daß man allerdings mit großer Vorsicht solche Schnitte auf dem Objektträger mit aqua Javelli behandeln kann, wobei sämtliche Gewebsteile gelöst werden. Auf diese Weise ist man imstande, mikroskopische Korrosionspräparate der kleinsten Gefäße und Kapillaren zu erhalten.

Solche Präparate können auch durch Wasser in Glyzerin oder durch Alkohol in Kanadabalsam übergeführt werden. Diese Prozedur erfordert aber eine besondere Sorgfalt, da die korrodierten Präparate ungemein brüchig werden.

517. Eine andere Methode, die sogenannte Fettimprägnation der Lymphwege, ist ebenfalls von Altmann angegeben. Man bereite zu diesem Zweck entweder:

1.	Olivenöl	1 Volumen
	Alkohol abs.	$^1/_2$ »
	Schwefeläther	$^1/_2$ »

das Ganze muß klar aussehen, oder

2.	Rizinusöl	2 Volumina
	Alkohol abs.	1 Volumen.

Man lege frische Gewebsstücke, z. B. Hornhaut, in nicht zu wenig Mischung von 1 oder 2. Nach 5—8 Tagen kommen die betreffenden Stückchen aus dem Gemisch 1 oder 2 direkt auf einige Stunden in Wasser, wobei die äußerlich anhaftenden Fetteilchen abgespült und die in den Kanälen enthaltenen niedergeschlagen werden. Es kommen die Gewebsstücke auf 24 Stunden in eine 1%ige Osmiumsäure und können, wie bei den Gefäßen, entweder direkt mit aqua Javelli korrodiert werden, oder, wenn nötig, erst nachdem sie auf einem Gefriermikrotom geschnitten worden sind.

Will man die Korrosion möglichst sorgfältig machen und auf längere Zeit ausdehnen, so kann man aqua Javelli mit 1 oder 2 Volumen Wasser verdünnen.

518. Um Lymphkapillaren, resp. Lymphspalten, zu injizieren, wird die Methode der Injektion durch Einstich angewandt, die entweder mit Berlinerblau (siehe § 513) geübt wird, oder mit wässeriger Silbernitratlösung 1:1000 oder aber mit Silbernitrat, gelöst in Gelatine ($^1/_4$ auf 100) (Ranvier, 89). Man lege Gelatine auf 12 Stunden in eine reichliche Wassermenge, presse dann dieselbe mit den Händen möglichst gut aus und verflüssige dieselbe durch Erwärmen, dann erfolgt der Silbernitratzusatz.

10. Kapitel.

Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark.

519. Für die grobe Orientierung über den Bau der Lymphdrüsen genügen Schnitte durch kleinere Drüsen, die dem Mesenterium einer Katze etwa entnommen und mit Alkohol, Flemmingscher Flüssigkeit, Sublimat, Pikrinsäure fixiert worden sind.

An Schnitten, die mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt worden sind, kann man sich bequem über die Verbreitung der Mark- und Rindensubstanz orientieren; die Trabekel und die Kapsel erscheinen in der Eosinfarbe; für Bindegewebe färbe man nach § 223, 224, 225, 330 oder 332.

Um das Endothel der Trabekel zur Darstellung zu bringen, spritze man von einem vas afferens aus, oder ein-

facher, durch Einstich in die Lymphdrüse, eine schwache, z. B. $^1/_{10}$ %ige Silbernitratlösung ein. Nach einer halben Stunde wird die Drüse in Alkohol fixiert. Schnitte, die nicht unter 15 μ dünn sein dürfen, zeigen die bekannte Endothelzeichnung auf den Trabekeln.

Zellige Elemente der Milz untersucht man an Strichpräparaten aus der frischen Milz, die man wie Blutpräparate behandelt.

520. Für das Studium der Keimzentren Flemmings empfehlen sich neben den Lymphdrüsen selbst die solitären Knötchen des Darmes. Lymphdrüsen oder Darmstücke werden am besten mit Flemmingscher Lösung fixiert und mit Safranin gefärbt.

521. Das retikulierte adenoide Gewebe ist an intakten Schnittpräparaten nur wenig oder gar nicht wahrzunehmen, an sehr dünnen Schnitten (1—3 μ) ist dasselbe aber gut zu sehen. An dickeren Schnitten kommt es erst dann zu Gesicht, wenn man die Zellen auf irgend eine Weise entfernt.

Schnitte durch Lymphdrüsen, die entweder frisch oder mittels eines Gefriermikrotoms angefertigt worden sind, werden auf einem Objektträger mit wenig Flüssigkeit ausgebreitet und mit einem feinen Malerpinsel vorsichtig betupft; die Leukozyten bleiben am Pinsel zum Teil hängen, und man kann das Präparat nachträglich etwa mit Hämatoxylin färben, wobei sich die adenoiden Netze blau tingieren. Pinselmethode. (His, 61.)

Aber auch an zuvor fixierten Präparaten, die geschnitten worden sind und einige Zeit im Wasser gelegen haben, kann man das Pinseln sowohl, wie die nächstfolgende Methode üben; sie ist ebenfalls von His angegeben und besteht darin, daß man Schnitte in einem zur Hälfte mit Wasser gefüllten Probiergläschen einige Zeit schüttelt. Setzten wir zum Wasser Froschgalle zu, so schien es uns, als ob wir in kürzerer Zeit bessere Resultate erzielten; es ist nicht unmöglich, daß ein Teil der in den Maschen des Retikulums gelegenen Elemente sich in der Galle löst. Bei dieser Prozedur werden die meisten Leukozyten entfernt, und wenn man nun die Schnitte ausbreitet und färbt, so sieht man deutlich das retikuläre Bindegewebe.

522. Auch durch Verdauen der Schnitte mit Trypsin kann man das retikuläre Bindegewebe darstellen (s. § 340 ff.)

523. Retikuliertes Gewebe (nicht leimgebend in gewöhnlichem Sinne) kommt in Lymphdrüsen, Milz, Schleimhäuten, Leber, Niere, Lunge vor und wird nach Mall (91) dargestellt, indem man in Pankreatin verdaute Schnitte auf einem Objektglas ausbreitet und eintrocknen läßt. Dann wird dasselbe mit einem Tropfen der Lösung befeuchtet: Pikrinsäure 10 g, absoluter Alkohol 150 ccm, Wasser 300 ccm. Dies läßt man wiederum eintrocknen, worauf man den Schnitt mit einigen Tropfen Säurefuchsin bedeckt und etwa eine halbe Stunde stehen läßt. (Säurefuchsin 10 g, absoluter Alkohol 33 ccm, Wasser 66 ccm.) Das überschüssige Fuchsin wird dann abgegossen, der Objektträger für sehr kurze Zeit in die Pikrinsäurelösung gebracht und dann in absoluten Alkohol übertragen. Xyol, Kanadabalsam (ist im wesentlichen Altmanns Granulamethode, siehe § 256; vgl. auch §§ 342, 343).

524. Um Bindegewebe der Milz klar zur Anschauung zu bringen, injiziert Woronin erst eine physiologische Kochsalzlösung in die Blutgefäße, art. oder vena lienalis, um Blut wegzuspülen, und erst dann eine passende Fixationsflüssigkeit auf demselben Wege nach. Dabei unterbindet er die bei der Herausnahme der Milz durchschnittenen Gefäße sorgfältigst und erhöht dann den Injektionsdruck, bis die Milz das 3—4fache des ursprünglichen Volumens angenommen hat. Die Kanüle wird abgebunden und das Organ in dieselbe Fixierungsflüssigkeit übertragen; es kollabiert in derselben nur wenig. Nach einiger Zeit wird es in Stücke zerlegt und weiter behandelt. Die Bestandteile der auf diese Weise behandelten Milz rücken auseinander und es erscheinen, vom Blut nicht mehr verdeckt, das retikuläre Bindegewebe und die fixen Zellen in großer Deutlichkeit. —

Ein analoges Verfahren läßt sich auch auf das Studium der Tunicae propriae der Schleimhäute des Darmes durch Injektion der Blutgefäße des zu untersuchenden Bezirkes, auf die Untersuchung der Lymphdrüsen durch forcierte Injektion durch Einstich in die Sinuse etc. anwenden. Man gewinnt so klarere Bilder, welche aber immer noch innerhalb der Norm liegen, da ja alle diese Organe großen Volumveränderungen angepaßt sind. — Färbung nach § 278 gibt sehr klare Bilder.

525. Fasern, welche sich zum Teil von denen unterscheiden, welche die eben beschriebenen Methoden liefern,

erhält man bei Anwendung der in § 583 beschriebenen Silbermethode auf in Alkohol fixierte Stücke von Milz und Lymphdrüse. Vor Anwendung der Methode schneide man von den Stücken die Kapsel weg. In der Milz färben sich Fasern in der Pulpa, Fasern im Malpighischen Körperchen und eine besondere, auch die Gefäße überkleidende Rindenschicht des Malpighischen Körperchens (Oppel, 91). Im Knochenmark hat Enderlen mit derselben Methode ebenfalls ähnliche Fasern nachgewiesen.

526. Für die Untersuchung der Zellen würde man die verschiedenen Färbungen anzuwenden haben, die bei der Untersuchung der Lymphe (siehe § 279 ff.) verwandt werden, auf Schnitte, oder indem man sich durch Abschaben einer frischen Schnittfläche Material verschafft, welches man ganz in der Weise, wie es bei der Lymphe gesagt worden ist, behandelt.

527. Die Methode der Untersuchung der Milz ist ganz dieselbe wie die der Lymphdrüsen. Elastische (?) Fasern der venösen Kapillaren färbe man mit Orzeïn v. Ebner (99) (siehe § 336) oder nach Weigert, besser mit Bleu de Lyon, Bindegewebsfibrillen nach Hansen. Wie wir gefunden haben, färben sich die »Fadennetze« Henles der Billrothschen venösen Kapillaren in der Milz nicht nur mit Orzeïn und nach dem Weigertschen Verfahren (siehe § 335), sondern auch nach dem Hansenschen Verfahren (siehe § 330).

Die Injektion der Milzgefäße gehört zu den schwierigsten Problemen der Injektionstechnik.

528. Zum Nachweis von Eisen in Schnitten der Milz (auch anderer Organe) empfiehlt sich die Berlinerblaureaktion (nach dem Verfahren von Wicklein, 89). Am besten nicht aufgeklebte Schnitte in Alkohol fixierter Präparate werden mittels Glashäkchen in ein 25 ccm 1%iger Salzsäure enthaltendes Glasschälchen gebracht, unmittelbar darauf mittels einer Pipette 3 Tropfen einer frisch zubereiteten kalt gesättigten wässerigen Lösung von Ferrocyankalium hinzugesetzt, es wird umgerührt und 5 Minuten gewartet. Dann kommen die Schnitte in reichliche Mengen mehrfach zu erneuernden destillierten Wassers (etwa 1/4 Stunde) und werden event. mit Alaunkarmin nachgefärbt und in Kanadabalsam eingeschlossen. In solchen Schnitten ist alles eisenoxydhaltige Pigment gebläut.

529. Knochenmark siehe §§ 379, 380, 381 und 525.

11. Kapitel.
Darm und Drüsen.

530. Die **Mundhöhlenschleimhaut** wird in der gewöhnlichen Weise fixiert, also z. B. mit Alkohol, Sublimat, Flemmingscher Lösung, und bietet an mit Karmin usw. gefärbten Präparaten instruktive Orientierungsbilder.

Faßt man Spezielles ins Auge, will man beispielsweise das Epithel oder die Drüsen usw. eingehender untersuchen, so würde man dementsprechend die Methoden zu modifizieren haben.

531. Die Papilla circumvallata und foliata (seltener fungiformis) sind Träger von **Geschmacksknospen**, welche aus Stütz- und Sinneszellen zusammengesetzt sind; diese werden bei weitem am besten mit der Flemmingschen Lösung fixiert.

Dünne Schnitte, die entweder längs durch die Knospe oder quer durch dieselbe (sehr genaue Orientierung erforderlich) geführt worden sind, werden entweder mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung oder mit Safranin-Gentianaviolett (siehe § 632) gefärbt.

532. Will man die Nerven bis zu den Schmeckbechern, resp. den Epithelien, verfolgen, so bedient man sich der Golgischen Methode (siehe § 478 ff.), der vitalen Methylenblaufärbung (siehe § 455 ff.), nach R. y Cajal § 490, oder man verfährt in folgender Weise:

Eine Papilla foliata eines Kaninchens wird mit einem Rasiermesser flach abgeschnitten, in vorher filtrierten Zitronensaft auf 10 Minuten eingelegt und auf 40 bis 60 Minuten in Goldchlorid übertragen. Überträgt man nun die Papille in ein schwach mit Essigsäure angesäuertes Wasser, so vollzieht sich die Reduktion im Lichte (Ranvier), und es kann das Objekt mit Alkohol nachbehandelt und dann senkrecht auf die Leisten der Papille geschnitten werden. Nachdem die Schnitte eine kurze Zeit mit Ameisensäure, worin sie etwas quellen, behandelt worden sind, wird das Präparat in Glyzerin eingeschlossen.

533. Für alle **Drüsen** achte man darauf, daß man es hier nicht mit in gleichem Zustande bleibenden Gebilden zu tun hat. Die Drüsenzelle bietet ein ganz anderes Bild, wenn sie sezerniert oder einige Zeit sezerniert hat, als in der Ruhe.

Die Drüsenzellen ändern sich fortwährend. Man wird daher einzelne Stadien derselben herauszugreifen und be-

sonders zu untersuchen, z. B. für Magen im 1., 2. und 3. Verdauungsstadium (siehe physiologische Handbücher), und die verschiedenen Bilder vergleichend zu studieren haben.

Geeignetes Material verschafft man sich, indem man Tiere zunächst hungern läßt, dann füttert und nach bestimmten Zeiten tötet. Hierzu eignen sich am besten Hunde. Kaninchen oder Mäuse mit leerem Magen zu bekommen, ist schwieriger. Frösche kann man künstlich vermittelst eines kleinen Glastrichters, z. B. mit defibriniertem Blut, füttern.

Die verschiedenen Stadien kann man auch erzeugen, indem man bestimmte Reize einwirken läßt, z. B. Nervenreizung und gewisse Gifte.

Von großer praktischer Bedeutung für die histologische Untersuchung sind in erster Linie Pilokarpin und Atropin, da bei Atropin-Intoxikation die Sekretion unterdrückt, bei Pilokarpin befördert wird; auf diese Weise bekommt man geladene und erschöpfte Drüsenzellen. Die beiden Gifte werden in folgenden Dosen beim Kaninchen pro Kilo Tier angewendet: Pilokarp. hydrochlor. 1 ccm einer 5%igen Lösung; Atropin. sulf. 1 ccm einer 0,5%igen Lösung.

534. **Drüsen** können an geeigneten Objekten **frisch** untersucht werden, z. B. Schleimdrüsen an der Nickhaut des Frosches (s. § 561).

535. Zur Fixierung kleiner Stücke von Speicheldrüsen verwende man Flemmingsche Lösung oder auch Sublimat.

536. Solger (96) empfiehlt für Untersuchung frischer Drüsen Gefrierschnitte, (nach dem Vorgang von Kölliker) ohne Zusatzflüssigkeit zu untersuchen; Umrandung des Deckgläschens verhütet Verdunstung. Die hier sichtbaren Sekretgranula seröser Drüsen erhalten sich nach Fixierung in 10%iger Formalinlösung (3 Tage), auch in Sublimat und Altmanns Osmiumbichromatgemisch.

537. Zur Darstellung der **Sekretkapillaren** seröser Drüsenzellen und der **Giannuzzi**schen Halbmonde dient die rasche Golgische Methode (siehe § 479) und M. Heidenhains Eisenhämatoxylinfärbung (siehe § 199), letztere mit nachfolgender oder vorausgehender Rubinfärbung. Auch Ehrlich-Biondis Triazidgemisch (siehe § 233) führt zum Ziel.

Zur Färbung der Giannuzzischen Halbmonde empfehlen sich auch Doppelfärbungen von mit Alkohol, Sublimat etc. fixierten Stücken, z. B. Hämatoxylin- und Eosinfärbung, wobei die Halbmonde blau erscheinen.

538. Die Zellen der Schaltstücke v. Ebners färben sich mit Karmin und mit Hämatoxylin intensiver wie die übrigen der Drüse.

539. Die Strichelung der basalen Teile der Epithelien der **Speichelröhren** in Speicheldrüsen sieht man am besten an mit Osmiumsäure und mit Osmiumsäuregemischen behandelten ungefärbten und in Glyzerin eingeschlossenen Präparaten, in Kanadabalsam auch an gefärbten Präparaten weniger deutlich. Das gestrichelte Epithel der Speichelröhren färbt sich mit Hämatoxylin-Kongorot (§ 547) rotbraun.

540. An der Mehrzahl der Speicheldrüsen (nicht an der Parotis des Kaninchens oder Sublingualis vom Hund z. B.) lassen sich durch Schütteln (um den Zutritt der Luft zu begünstigen) kleiner Stücke derselben mit Pyrogallussäure, die Speichelröhren dunkelbraun färben (Kalkreaktion); die Farbe hält sich in Alkohol (Merkel, 83).

541. Ösophagus. Für Übersichtsbilder wähle man den Ösophagus kleinerer Tiere. Von größeren Säugern muß man entweder die Schleimhaut abpräparieren und diese allein schneiden, oder mit Zelloidin durchtränken, da sich Schnitte, z. B. durch ein Stück des ganzen Ösophagus des Menschen, in Paraffin nur schwer herstellen lassen.

542. Für **Magen und Darm** dienen die gewöhnlichen Fixierungsmethoden, vor allem Sublimat. Stets lege man einige Kontrollstücke in Alkohol ein. Man nehme möglichst frische Objekte, bei welchen noch keine Selbstverdauung stattgefunden hat. Man fixiere kürzere Stücke ganz oder schneide den Darm auf. Abwaschen mit Wasser kann schaden.

Will man größere Darmstücke in toto fixieren, so fülle man den Darm mittels einer geeigneten Spritze, die man in das eine Ende einbindet, mit Fixierungsflüssigkeit, z. B. Sublimat (Glasspritze), nachdem man das andere Ende zugebunden hat; ist er mäßig gefüllt, so binde man vor der Spritze auch zu und lege den Darm in eine reichliche Menge derselben Fixierungsflüssigkeit. Beim Auswässern werden die beiden unterbundenen Enden abgeschnitten.

Übersichtsbilder über die Verteilung der Drüsenregionen des Magens (auch unter Erhaltung des Oberflächenepithels) bekommt man am besten mit Sublimat (Glasspritze). Will man Schnitte durch einen ganzen Magen (man wähle anfangs kleine Tiere) anfertigen, so empfiehlt

es sich, in den fixierten Magen Fenster einzuschneiden, um das Eindringen der Durchtränkungsflüssigkeiten zu erleichtern.

543. Für spezielle Untersuchung der Mukosa empfiehlt es sich, dieselbe mit einem scharfen Messer abzupräparieren und dann mit Nadeln auf einer Korkplatte auszuspannen. Die Korkplatte läßt man auf der Fixierungsflüssigkeit mit der Präparatseite nach unten schwimmen.

544. Magen-Drüsenzellen. Besonders für Sublimatschnitte ist die Doppelfärbung Hämatoxylin-Eosin geeignet. Eosin färbt bei niederen Vertebraten die gekörnten Drüsengrundzellen, während die Halszellen hell bleiben; bei Säugern färbt es die Belegzellen. Überhaupt scheinen die sauren Aniline die Belegzellen zu färben, und es können dabei die roten mit Hämatoxylin und die blauen mit Karmin kombiniert werden.

545. Korbförmige Sekretkapillaren werden an den Belegzellen durch die Golgische Methode dargestellt. (E. Müller, 92). Zimmermann (98) fixiert dieselben mit Kochsalz. In physiologische Kochsalzlösung 100 zu Alkohol 96%ig 200 kommen die Schnitte für 10—15 Minuten (häufig umrühren), das Chromsilber geht in Chlorsilber über, die Schnitte bleiben dann in 75—96%igem Alkohol einen halben Tag im Licht stehen. Nachfärben mit Hämatoxylin und Eosin oder Säurefuchsin.

546. Mineralsäuren (Salpeter-, Schwefel-, Salzsäure 0,5—5%) trüben und machen schrumpfen sowohl die Beleg-, als die Hauptzellen (Salpetersäure von weniger wie 0,5% bringt die Belegzellen zum Aufquellen, ebenso Essigsäure von 0,5—5%) mit steigender Konzentration in immer höherem Grade. Spült man die Säure aber mit Wasser ab, so hellen sich die Belegzellen unter Quellen auf, die Hauptzellen bleiben trüb und scheinen noch weiter zu schrumpfen (R. Heidenhain, 70).

547. Hämatoxylin-Kongorot. Schnitte der in Alkohol oder Sublimat fixierten Fundusschleimhaut werden 1 bis $1^1/_2$ Minuten in Böhmersches Hämatoxylin gebracht, einige Sekunden in 1‰ige wässerige Salzsäure, sodann mehrere Minuten in Wasser, oder wenn man eine stärkere Blaufärbung der Kerne und der Hauptzellen beabsichtigt, direkt in Wasser abgespült. Darauf kommen sie für 2—5 Minuten in eine verdünnte (im Uhrschälchen sattrot, aber gut durchsichtige) wässerige Lösung von Kongorot, aus dieser so lange in Wasser oder verdünnten Alkohol,

bis das zunächst überfärbte Präparat genügend ausgezogen erscheint. Absoluter Alkohol zieht den Farbstoff sehr langsam aus. Belegzellen erscheinen dann rot und die Hauptzellen bläulich. Auch die eosinophilen Zellen können mit Kongorot dargestellt werden (Stintzing, 99).

548. Magen- und Darm**epithelien** können mittels der in § 548 ff. angeführten **Isolationsmethoden** untersucht werden; besonders eignet sich hierfür die 1 ‰ige Osmiumsäure.

Das Ausfließen der freien Enden der Magenepithelien, welches bei Anwendung vieler Fixierungsflüssigkeiten erfolgt, kann man durch Fixieren mit Sublimat verhüten. Für Darmepithelien empfehlen sich Osmiumsäuregemische, speziell die Flemmingsche Lösung.

549. Bilder über die **Fettresorption** erhält man an mit Flemmingscher Lösung behandelten Darmstücken, doch beachte man § 346.

Ewalds Isolationsmethode und die Zentrifuge (siehe § 267 und 269) eignen sich sehr gut für Demonstration des Fettes in isolierten Darmepithelien nach Fettfütterung (Kaninchen.)

550. Bei Untersuchung der Fettresorption ist zu beachten, daß das Fett, wie durch die Fütterungsversuche Biedermanns (98) mit alkannisiertem Fett nachgewiesen ist, vor seiner Aufnahme in die Zylinderepithelien in seine Konstituentien (in Wasser lösliche Verbindungen) zerlegt wird. — Man muß ferner bedenken, daß die Darmepithelzelle den größeren Teil des Fettes in derselben Form weitergibt, in welcher sie ihn gebildet hat. Es hätten dann die in den Darmepithelzellen und in fast allen Geweben des Darmes nachweisbaren Fetttröpfchen, die zweifellos gleichfalls aus den resorbierten Spaltungsprodukten des Fettes entstanden sind, doch eine ganz andere, dem eigentlichen Wesen der direkten Fettaufnahme mehr fernstehende Bedeutung.

551. **Zotten** können **frisch** untersucht werden in indifferenten Lösungen (s. § 10 ff.); namentlich eignen sich die Zotten von Mäusen und Ziegen hierfür.

Bei allen Fixierungsmethoden hat man mit Kontraktion der Zotten zu rechnen, welche zur Ablösung des Epithels und ähnlichen Artefakten führen kann. Verhältnismäßig gute Resultate erzielt man mit Osmiumsäure.

552. Das **Muzin** in Schleimdrüsen und Becherzellen des Darmes verschiedener Tiere wird durch die basischen Teerfarbstoffe (im Sinne Ehrlichs, s. § 204)

mehr oder weniger intensiv gefärbt, z. B. durch Methylenblau und Thionin (vgl. Hoyer, 90).

Farblösungen zur sicheren Schleimfärbung verdanken wir Paul Mayer (96):

553. Muzikarmin. Karmin 1 g, Chloraluminium 0,5 g, dest. Wasser 2 ccm über kleiner Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzen, bis das Gemisch ganz dunkel geworden. Dazu 100 ccm Alkohol von 50%. Diese Stammlösung ausnahmsweise entweder direkt oder nach Verdünnung auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ mit Alkohol von 50 oder 70% zu gebrauchen, in der Regel aber mit (destilliertem oder) gewöhnlichem Wasser auf $^1/_{10}$ zu Muzikarmin (Gehalt an Karmin $^1/_{1000}$) zu verdünnen. Diese Farbe soll in den Schnitten oder dünnen Membranen nur den Schleim färben (eventuell zur Nachfärbung nach Hämalaun.)

554. Muchämateïn. Hämateïn 0,2 g, zu zerreiben mit einigen Tropfen Glyzerin, dazu Chloraluminium 0,1 g, Glyzerin 40 ccm, dest. Wasser 60 ccm. — Spirituöse Lösung: Hämateïn 0,2 g, Chloraluminium 0,1 g, Alkohol (von 70%) 100 ccm, Salpetersäure 1—2 Tropfen. Auch diese Lösung zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen.

555. Das Muzin löst sich in verdünnten Alkalien, z. B. in Kalkwasser, und kann aus diesen Lösungen mit Essigsäure gefällt werden. Der Niederschlag löst sich im Überschuß der Essigsäure nicht. Durch Alkohol wird Muzin gefällt, beim Kochen nicht. Muzinogen färbt sich nicht mit Hämatoxylin, wohl aber das Muzin selbst. Man kann durch diese Methode eine tätige und eine ruhende Drüse unterscheiden. R. Heidenhain (80).

Bei der Untersuchung des Schleimes haben wir im Auge zu behalten, daß diejenigen Muzine, welche man bisher rein darzustellen vermochte (Muzin der Submaxillardrüse vom Rind, Muzin der Sehnenscheiden und des Nabelstranges, sowie die Muzine der Weinbergschnecke), zwar die wesentlichsten Eigenschaften gemein haben, jedoch durch Löslichkeits- und Fällungsverhältnisse voneinander abweichen.

556. Für die Untersuchung der Tunica propria vgl. § 521—524 und 559.

557. Stützgewebe des Darmrohres: Zum Studium der Verteilung der elastischen Fasern dient die Orzeïnfärbung (siehe § 336) und das Weigertsche Verfahren (siehe § 335), für die Anordnung der Bindegewebsfibrillen die Hansensche Färbung (siehe § 330).

558. Bei Stückfärbung mit Boraxkarmin mit folgender Schnittfärbung in wässeriger 2‰iger Lösung von Indulin 4 Stunden werden nach Maas (99) im Darm (Myxine) Kerne rot, Plasmazellen und Muskularis rosa, Bindegewebe tiefblau. — Ferner erzielt Maas (99) durch Stückfärbung in etwa 2%iger (sherryroter) Lösung von Kongorot 2—3 Stunden, Ausspülen und schnell durch schwächeren Alkohol zu Alkoh. abs. mit folgender Schnittfärbung in stark verdünntem (durchsichtigem) Böhmerschem Hämatoxylin 5 bis 10 Minuten Differenzierung des Bindegewebes.

559. Zum Studium des Darmstützgewebes empfiehlt Maas (99) bei Trypsinverdauung, dem Pankreasextrakt (vom Schwein) Kongorot zuzusetzen, so daß mit dem Ende des Versuches das unverdaute Bindegewebe bereits gefärbt vorliegt. Verdaut man statt bei gewöhnlicher Temperatur in der Wärme (bei 37—42°), so sind im Gegenteil nach 2 Stunden alle bindegewebigen Bestandteile gelöst, alle zelligen noch erhalten (nach 4—5 Stunden werden auch diese gelöst). Man hat also nach Maas (99) im Pankreassaft nicht nur ein Mittel, Bindegewebe von den zelligen Elementen getrennt zu erhalten, sondern auch diese isoliert vom Bindegewebe darzustellen (fixiertes Material).

560. Material für **Untersuchung der Noduli** (siehe auch § 520 ff.). Besonders geeignet sind Peyersche Noduli, welche makroskopisch gesucht, ausgeschnitten und z. B. mit Flemmingscher Lösung behandelt werden. Dünndarm, Caecum vom Meerschwein, Kaninchen; Processus vermiformis vom Menschen enthält eine kontinuierliche Reihe von Noduli.

So behandelte Noduli können geschnitten und gefärbt werden, wobei man Beziehungen zwischen den basalen Enden des Epithels und dem darunter liegenden Gewebe sieht (namentlich in Kanadabalsampräparaten).

561. Frische Pankreasstückchen, in physiologischer Kochsalzlösung vorsichtig ausgebreitet, lassen die Körnchen der Innenzone erkennen (Kühne und Lea, 74).

562. Um die **Innen- und Außenzone der Pankreasdrüsenzellen** durch Färbung darzustellen, gibt es zwei Wege, entweder färbt man die Innenzone oder die Außenzone.

Zur Färbung der Außenzone hat R. Heidenhain (80) vorgeschlagen, in Alkohol fixierte Stücke mit ammoniakalischem Karmin oder mit Hämatoxylin zu färben (Boraxkarmin gibt ebenfalls gute Resultate).

Zur Färbung der Körnchen der Innenzone empfehlen sich für Sublimatpräparate Methylgrün-Eosin-Mischung (s. § 231) oder Methylgrün-Fuchsin-S.-Mischung (s. § 232) oder das Ehrlich-Biondische Triazidgemisch (s. § 233).

Die Körnchen werden dann rot, während die Außenzone hell bleibt. Material: besonders geeignet sind Amphibien (Salamander), weniger geeignet Säugetiere, besser im Hungerzustand.

Bei Behandlung mit Flemmingscher Lösung, Färbung mit Safranin und Auswaschen mit Pikrinsäure, färben sich die Körnchen der Innenzone rot.

563. Mit der Golgischen Methode (s. § 480) lassen sich auch Sekretions- und Ausführungswege verschiedener Drüsen, z. B. Magendrüsen, Pankreas und Speicheldrüsen, zur Darstellung bringen.

564. Auerbachscher und Meißnerscher Plexus. Beide lassen sich an aufgespannten Darmstücken mit der Goldmethode (s. § 443) darstellen. Aber auch in Alkohol fixierte aufgespannte Darmstücke, die mit schwachen Hämatoxylinlösungen, z. B. der Ehrlichschen (siehe § 191), gefärbt werden, zeigen mitunter in blauer Farbe die genannten Plexus. (Auch ältere Methoden, Holzessig, verdünnte Essigsäure, führen zum Ziele.)

12. Kapitel.
Leber.

565. Bei der Wahl des Materials für **Übersichtsbilder** wähle man zunächst die leicht zu erlangende Schweinsleber. Diese zeigt annähernd kugelige Läppchen, die durch sehr viel interlobuläres Bindegewebe voneinander geschieden sind. Die Leber des Menschen (Rind, Kaninchen, Meerschweinchen etc.) zeigt keineswegs so gut abgegrenzte Läppchen, diese konfluieren sehr oft miteinander zu doppelten, ja zu dreifachen Läppchen, die dann gemeinsam vom interlobulären Bindegewebe umgeben werden, welches unter Umständen sehr schwach entwickelt ist.

Das Besehen der Leber von Embryonen und Föten bietet insofern ein Interesse, als man dabei erfährt, daß die Gliederung in Läppchen weniger, wie bei der definitiven, ausgeprägt ist.

566. Die Wahl der Methoden richtet sich danach, ob man die Leberzellen, die Blutgefäße, die Gallenkapillaren oder das Bindegewebe der Leber im Auge

hat. Instruktive Übersichtsbilder liefern fast alle für allgemeine Zwecke gebräuchlichen Fixierungsmethoden. Hämatoxylinfärbungen liefern die instruktivsten Bilder. Mit Osmiumsäure und Flemmingscher Chrom-Essig-Osmiumsäure erzielt man in den Leberzellen (Frosch) die Differenzierung in Proto- und Paraplasma Kupffers.

567. Leberzellen und **Leberzellenbalken** isoliert man nach Heidenhain, 03, indem man von den frischen Schnittflächen einer nicht fetten Leber mit einem Skalpell schabt, das Geschabte mit $^1/_3$ Alkohol 24 Stunden behandelt und auf der Zentrifuge isoliert. § 269.

568. Die **Blutgefäße** der Leber werden gewöhnlich von der Pfortader aus injiziert (siehe § 511 ff.), doch ist dies auch von der Arterie und von den Venen aus möglich.

569. Auch die **Gallenwege** kann man vermittelst der Injektionsmethode zur Darstellung bringen, am besten mit in Wasser löslichem Berlinerblau, und zwar mit einer konzentrierten Lösung. Man injiziert entweder vom ductus hepaticus oder vom ductus choledochus aus. Die Injektionsmasse gerät im letzteren Falle zunächst in die Gallenblase und erst, nachdem diese prall gefüllt ist, verbreitet sie sich durch den ductus hepaticus in die Leber. Es wird auf diese Weise ein zu hoher Druck unmöglich, da die Gallenblase die Regulierung des Druckes übernimmt. Die Resultate dieser Injektion sind gar zu oft nicht befriedigende. Man hat mit Extravasaten zu kämpfen, und im günstigsten Falle sind an ganz beschränkten Stellen der Leber kleine Distrikte des Läppchens, gewöhnlich die der Peripherie, injiziert.

570. Die Gallenkapillaren wurden durch Färbung nach dem in § 494 angegebenen Verfahren (Heilmeyer) dargestellt.

571. Eine andere historisch ältere ist die sog. Methode der **physiologischen Selbstinjektion,** von Chrzonszczewsky (64 und 66) angegeben. Man injiziert in die vena jugularis ext. eine gesättigte wässerige Lösung des Indigokarmins (Hund auf einmal je 50 ccm, Katze 30 ccm, erwachsenes Kaninchen 20 ccm) dreimal im Laufe von $1^1/_2$ Stunden. Nach Verlauf dieser Zeit tötet man das Tier und fixiert kleinere Leberstücke mit absolutem Alkohol, Chlorkalium, oder indem man die Blutgefäße der Tiere mit einer gesättigten wässerigen Chlorkaliumlösung von der Pfortader aus ausspritzt. Man kann auch nachträglich die Gefäße

mit Karminleim injizieren und mit Alkohol härten; man bekommt alsdann mit Indigokarmin natürlich injizierte Gallenkapillaren und mit Karminleim injizierte Blutgefäße nebeneinander.

Schneidet man die so fixierte Leber, so findet man die Gallenkapillaren, falls die Zeit des Abtötens gut getroffen wurde, gefüllt mit Indigokarmin, welcher aus den Blut- und Lymphbahnen durch die Leberzellen in diese ausgeschieden worden ist.

572. Beim Frosch läßt sich das Ganze noch einfacher machen: Man injiziert in den Lymphsack des Frosches etwa 2 ccm einer wässerigen Indigokarminlösung; nach ein paar Stunden wird das Tier getötet und die Leber, wie eben angegeben, fixiert und weiter behandelt.

573. Darstellung der **Gallenkapillaren mit dichromsaurem Silber.** (Böhm A., siehe Kupffer, 89.) Frische Leberstücke, die nicht mehr wie 1 ccm groß sein dürfen, werden auf 3 mal 24 Stunden in folgende von Ramon y Cajal für andere Zwecke angegebene Flüssigkeit übertragen: 3%ige Lösung von Kalium bichromicum 4 Volumina, 1%ige Überosmiumsäure-Lösung 1 Volumen. Hieraus auf 24—48 Stunden in eine $^3/_4$%ige wässerige Silbernitrat-Lösung. Die Stücke werden alsdann mit destilliertem Wasser abgespült, in Alkohol kurz nachgehärtet und geschnitten. Die Gallenkapillaren erscheinen deutlich markiert.

574. Ein Stück Leber eines eben getöteten Tieres wird mit Kalium bichromicum in von 2 auf 5% rasch ansteigender Lösung fixiert. Nach drei Wochen bringe man das Stück in eine $^3/_4$%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach wenigen Tagen, nach acht Tagen sehr ausgebreitet, färben sich die Gallenkapillaren (Oppel, 90).

575. Braus (96) imprägniert die Gallenkapillaren mit Argentum nitricum nach Anwendung von Mischungen von $^1/_3$%iger Chromsäurelösung und Formol oder Gemisch von Müllerscher Flüssigkeit und Formol (75 Volumprozent Chromlösung und 25 Volumprozent 40%iger wässeriger Formaldehydlösung, besonders für fettreiche Leber). Oft kann ein Erfolg durch wiederholtes Überführen der Stückchen von Chromlösung in Silber noch nach Wochen erzielt werden. Vgl. auch das von Kopsch (96) angegebene Verfahren in § 482 (Kaliumbichromat-Formol).

576. Die Färbung der Gallenkapillaren ist nach der M. Heidenhainschen Eisenhämatoxylin-Methode (siehe § 199), sowie mit dem Ehrlich-Biondischen Triazidgemisch (siehe § 233) möglich. Vgl. darüber R. Krause (93), E. Müller (95).

577. F. Behrens (98) empfiehlt zur Darstellung der Gallenkapillaren: Formolschnitte werden mit Merkelscher Beize (Chromalaun 2,5 Teile in 100 Teilen Wasser gekocht, dazu 5 Teile Eisessig und 5 Teile Kupferazetat) 4 bis 5 Tage gebeizt, dann mit Kaliumpermanganat oxydiert und mit Natriumsulfit und Ameisensäure reduziert, mit Wasser abgespült und in Methylviolett gefärbt. — Der Inhalt der Gallenkapillaren wird durch Formalin für Wasser und Alkohol schwer löslich gemacht. So bleiben die Gallenkapillaren mit ihrem Inhalt voll erhalten.

578. Darstellung des **Bindegewebes der Leber** nach Kupffer (76).

Aus der frischen Leber mittels des Doppelmessers angefertigte Schnitte werden in 0,6 %iger Kochsalzlösung abgespült oder aber, und das empfiehlt sich mehr, eine Viertelstunde lang mit verdünnter Chromsäurelösung (0,05 %) behandelt, hierauf in eine stark verdünnte Goldchloridlösung nach Gerlachs Vorschrift

1 Teil Goldchlorid
1 Teil Salzsäure und
10000 Teile Wasser

übertragen und verbleiben in der Lösung, unter Ausschluß des Lichtes, bis sie sich rot oder rotviolett gefärbt haben. Ist diese Färbung in 48 oder mehr Stunden erreicht, so sind die Schnitte unmittelbar zur Beobachtung zu verwenden.

Starke Lösungen des Goldsatzes von $^1/_4$ bis $^1/_2$ % und dementsprechend kürzere Behandlung der Schnitte mit der Lösung sind für den vorliegenden Zweck nicht geeignet. Das vorgängige Abspülen der Schnitte mit verdünnter Chromsäure ist keineswegs conditio sine qua non des Gelingens, trägt aber wesentlich dazu bei. Zur Untersuchung bringt man die Schnitte in mit Salzsäure angesäuertem Glyzerin auf den Objektträger.

579. Diese Methode, für welche man die Schnitte auch vermittelst des Gefriermikrotoms entnehmen kann (P. Rothe), führt unter Umständen auch zur Darstellung der Sternzellen Kupffers.

580. Bruchstücke des Bindegewebes der Leber kommen auch dann zum Vorschein, wenn man frische Leberstücke, die nicht über 1 ccm groß sein dürfen, auf 2—3 mal 24 Stunden

in $^1/_2$ %ige Chromsäurelösung und dann auf 1—2 Tage in eine $^1/_2$ %ige Silbernitratlösung verbringt. Die Stücke können, nachdem sie einige Minuten in destilliertem Wasser abgespült worden sind, mit Alkohol gehärtet und geschnitten werden. Das intralobuläre Bindegewebe erscheint bei durchfallendem Lichte schwarz auf farblosem Grunde (Böhm A., siehe Kupffer, 89).

581. Neuere Methode von Kupffer (99) für Sternzellen:

Ein Teil Goldchlorid und ein Teil Formol (= 0,4 Formaldehyd, Formol muß frisch bereitet sein) wurden in 10000 Teilen destillierten Wassers gelöst. Mit dem Doppelmesser hergestellte Leberschnitte wurden zunächst auf 10 Minuten in eine ganz schwache Chromsäurelösung 1 : 10000 gesetzt, darauf in jene Lösung übertragen; in flachen Glasgefäßen, in welchen die Lösung etwa 3 cm hoch steht, wurden die Leberschnitte in einfacher Schicht ausgebreitet. Nach 36 Stunden oder später tritt in der Regel die Färbung ein, wobei die Sternzellen schwarz erscheinen. Die Schnitte können durch Alkohol und Toluol in Kanadabalsam überführt werden, sie dunkeln aber in der Regel nach. Fetthaltige Lebern dürfen nicht verwendet werden, da die Fetttropfen sich ebenfalls schwärzen. Diese Methode ist viel sicherer als die in § 579 angegebene.

582. Spritzt man einem Kaninchen Tusche, etwa $^1/_5$ g, fein verrieben in physiologischer Kochsalzlösung 10 ccm in die Blutbahn (Vena jugularis) ein und tötet das Tier nach 24—36 Stunden, fixiert die Leber in beliebiger Weise und schneidet, so findet man die Sternzellen mit Tusche gefüllt. Ähnliches erzielt man, wenn man Tusche in den Lymphsack des Frosches oder die Bauchhöhle einer Maus einspritzt. Zinnober statt Tusche zu nehmen, ist weniger zu empfehlen (v. Kupffer, 99).

583. Darstellung des intralobulären Bindegewebes nach Oppel, 90 und 91, (sicherer als die Methode von § 580): In Alkohol fixierte große Stücke der Leber werden auf 24 Stunden in eine 5 %ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum gebracht. Man spüle sie dann mit einer sehr dünnen Höllensteinlösung (einige Tropfen einer $^3/_4$ %igen Lösung auf 30 ccm destillierten Wassers) ab und lege sie in eine $^3/_4$ %ige Lösung von Argentum nitricum. Nach 24 Stunden haben sich in der Leber intralobuläre Fasernetze (Gitterfasern) gefärbt, welche die Blutkapillaren umspinnen. Die Stücke kommen einige Stunden in

destilliertes Wasser, dann in Alkohol. Paraffin-Durchtränkung ist zulässig, doch schneidet man besser mit freier Hand. Auch verhältnismäßig dicke Schnitte (30—40 μ) sind brauchbar für das Studium der Gitterfasern. — Stets sind nur die Randpartien des Stückes gefärbt; die Schnitte sind daher parallel zu einer Seite nahe der Oberfläche des Stückes zu entnehmen.

584. Die bei der Lymphdrüse erwähnte Pinsel-, resp. Schüttelmethode der Schnitte, führt zur Darstellung des interlobulären Bindegewebes und eines Teils des intralobulären.

Siehe auch die Mallsche Methode § 523 und 343.

585. Um das Glykogen der Leber zu studieren, verfährt Ranvier folgendermaßen: Es wird ein Hund 2 Tage lang mit gekochten Kartoffeln gefüttert, die durch Zusatz von Fett schmackhafter gemacht werden, danach getötet, und kleine Leberstücke mit einem Gefriermikrotom in Schnitte zerlegt. Die Schnitte werden in Jodserum (siehe § 13) gebracht und darin untersucht. Man findet zunächst das Glykogen in der Leberzelle in diffuser Form; es ballt sich aber später zu unregelmäßigen Massen. Noch später tritt Glykogen auch an der Oberfläche der Leberzellen auf. Solche Schnitte, welche die Glykogenjodreaktion (weinrote Farbe desselben) zeigen, kann man mit Osmiumdämpfen räuchern und so 24 bis 48 Stunden lang fixieren. Später verschwindet die weinrote Farbe gänzlich.

586. Zur Darstellung der Nerven in der Leber empfiehlt Berkley (93) folgende Methode: $^1/_2$—1 mm breite Streifen des frischen Organs kommen in zur Hälfte mit heißem Wasser verdünnte gesättigte Lösung von Pikrinsäure in Wasser auf 15—30 Minuten und dann in eine Lösung von Kalium bichromicum und 2%iger Osmiumsäure (100 : 16) im Dunkeln bei 25° C. auf 48 Stunden. (Diese Lösung muß man vor dem Gebrauche einige Tage in der Sonne stehen lassen.) Die Objekte werden dann mit einer $^1/_4$—$^3/_4$%igen wässerigen Silbernitratlösung 5 bis 6 Tage behandelt, gewaschen, geschnitten (rasche Zelloidindurchtränkung nicht ausgeschlossen). Bergamottöl, Xylol-Kanadabalsam.

13. Kapitel.

Atmungsorgane. Thyreoidea und Thymus.

587. Kehlkopf und Trachea kleinerer Tiere, die nicht alt sein dürfen, werden am besten in der Flemmingschen

Flüssigkeit fixiert, aber auch andere Fixierungsmittel, wie z. B. Sublimat, Zenkersche Flüssigkeit und auch Alkohol geben ganz befriedigende Bilder.

Die Knorpel des Kehlkopfes, auch der Trachea älterer Tiere, sind häufig verkalkt, daher schwer im ganzen zu schneiden. Bei solchen präpariere man die Schleimhaut nach dem Fixieren sorgfältig ab, durchtränke und schneide diese allein. Oder aber man durchtränke zunächst den Kehlkopf ganz mit (weichem) Paraffin und schneide dann mit einem Messer die harten Knorpelpartien ab; letzteres Verfahren gibt bessere Resultate. Größere Kehlköpfe schneide man (wenn im ganzen zu schneiden) in Zelloidin.

Die mit der Flemmingschen Flüssigkeit (siehe § 42) vorbereiteten Stücke werden in Schnitte zerlegt und mit Safranin tingiert. Außer der Kerntinktion des Safranins erhält man bräunlich tingierte Becherzellen und rotbraun tingierte elastische Netze des Stratum proprium der Mukosa und der Submukosa.

Nach Sublimat, Chromsäure und Alkohol kann man mit Erfolg die Stückfärbung mit Borax-Karmin anwenden.

588. Faßt man speziell das Studium der Drüsen ins Auge, so fixiere man sorgfältig, z. B. mit Flemmingscher Lösung, isoliere die Schleimhaut durch Abschneiden mit dem Rasiermesser, durchtränke, schneide und färbe für spezielle Zwecke.

589. Selbstverständlich kann das Flimmer- und Pflaster-Epithel der Respirationswege im frischen Zustande sowohl, als auch mazeriert (Vorzügliches leistet Ranvierscher $^1/_3$ Alkohol) beobachtet werden (siehe § 262 ff.).

590. Die Wahl des Materials für die Untersuchung der **Lunge** muß mit besonderer Sorgfalt getroffen werden, da man sehr oft pathologische Verhältnisse antrifft.

591. Um den Zusammenhang kleinster Bronchien mit den Alveolargängen und dieser mit den Trichtern zu sehen, fertige man Schnitte senkrecht auf die Oberfläche der Lunge an.

592. Um das sonst so schwer zu sehende **respiratorische Epithel** sichtbar zu machen, empfiehlt es sich, die Lunge mit Silbernitratlösung zu injizieren. Man verfahre dabei folgendermaßen (F. E. Schulze, 71 und Kölliker, 81): Man spritze eine 0,05 %ige Silbernitratlösung von der Trachea oder einem großen Bronchus aus in die Lunge ein, die man, ohne sie zu verletzen, dem Tiere eben entnommen

hat. Ist so die Lunge mäßig gefüllt, so binde man die Trachea an der Spitze der Kanüle ab, um das Zurückfließen der injizierten Flüssigkeit zu verhindern, und lege dann die so eingespritzte Lunge in eine $^1/_2$ %ige Lösung desselben Salzes. Nach einer Stunde etwa wird die Lunge in Stücke zerschnitten und in Spiritus von etwa 80% aufbewahrt. Man kann auch die ganze Lunge in Spiritus einlegen und erst später zerschneiden. Die mit Paraffin durchtränkten Lungenstückchen werden geschnittten (das Aufkleben der Schnitte mit Eiweiß ist zu vermeiden, wegen des späteren Nachdunkelns desselben). Solche dem Lichte ausgesetzte Schnitte zeigen nach einiger Zeit Silberlinien, sowohl der Alveolarepithelien, als der Alveolargänge. Die Kernfärbung ist zulässig (Hämatoxylin oder Safranin).

593. Elastische Fasern der Lungenalveolen untersucht man an frischen, mit Kalilauge behandelten Präparaten (siehe § 334); aber auch mit $^1/_3$ Alkohol mazerierte Lungenalveolen, die nachträglich auf dem Objektträger mit Pikrokarmin gefärbt werden können, liefern gute Bilder.

594. An Schnitten färbe man die elastischen Fasern (Kehlkopf, Trachea, Bronchen, Lunge) mit der Orzeïnmethode (siehe § 336) und dem Weigertschen Verfahren (siehe § 335).

595. Die Blutgefäße der Lunge lassen sich verhältnismäßig leicht mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (s. § 511 ff.) injizieren, oder man kann bei Amphibien z. B. die mit Blut gefüllten Blutgefäße in vivo beobachten (siehe Blutkreislauf § 320 ff.).

596. Man fixiere kleine Stückchen der **Schilddrüse** in der Flemmingschen Lösung (siehe § 42) 1—3 Stunden (sic), wasche 24 Stunden in oft zu wechselndem destilliertem Wasser aus und behandle mit allmählich verstärktem Alkohol (70%, 90%, 96%). Man schneide und färbe entweder im Stück mit R. Heidenhainscher Hämatoxylinlösung (siehe § 197) oder, und dies mit besserem Erfolg, mit Ehrlich-Biondischer Lösung (siehe § 233) (Langendorff, 89).

597. Die Kolloidsubstanz sieht homogen aus, trübt sich mit Alkohol und Chromsäure nicht, wird durch Essigsäure nicht geronnen, im Gegensatz zu Schleim, und färbt sich mit vielen Farbstoffen, z. B. mit Hämatoxylin.

Kolloid quillt in Essigsäure auf (Waschen in physiologischer Kochsalzlösung bringt die Masse auf das frühere Volumen zurück), weniger in $^1/_5$ %iger Salzsäure.

33%ige Kalilauge oder starke Natronlauge läßt Kolloid weniger aufquellen, setzt man aber Wasser zu, so zerfällt Kolloid eher, als sich Bindegewebe löst. 10%ige Kalilauge löst nach längerer Zeit Kolloid. Salpetersäure macht Kolloid etwas schrumpfen.

598. Die Technik der **Thymus** schließt sich eng an die der Lymphdrüsen an. Als Material sind besonders fötale Thymusdrüsen zu beachten. Die Hassalschen Körperchen sind beim Meerschweinchen in jedem Alter zu sehen (Renaut, 99).

14. Kapitel.

Niere und Harnwege. Nebenniere.

599. Beliebig fixierte Nieren, mit Alkohol z. B., werden in einer passenden Richtung mikrotomiert oder mit der Hand geschnitten und geben instruktive Bilder über die Verbreitung der **Mark-** und **Rindensubstanz.**

600. Will man die **Blutgefäße** der Niere spezieller ansehen, so untersucht man injizierte und fixierte Nieren. Die Injektion an kleineren Tieren wird von der Aorta descendens aus vollzogen, bei größeren Tieren von der Arteria renalis aus. Die mit Karmin- oder Berlinerblau-Leim (siehe § 511 ff.) injizierten Nieren werden mit Spiritus fixiert und geschnitten; nicht gefärbte Schnitte, die in Kanadabalsam aufgehellt sind, zeigen nur die Gefäßbahnen. Färbt man aber solche Schnitte, so sieht man neben den Gefäßbahnen die nicht besonders gut konservierten Harnkanälchen.

601. Um die **Harnkanälchen** zu isolieren, gebraucht man die reine Salzsäure von 1,12 spezifischem Gewicht und läßt diese 15 bis 20 Stunden (unter Umständen genügen auch 4—6 Stunden) auf kleine Stücke (etwa 0,5 cm Seite) einer nicht zu sehr frischen Niere (etwa 24 Stunden nach dem Tode) einwirken. Nach der angegebenen Frist werden die Stücke mit destilliertem Wasser gewaschen, auf dem Objektträger gezupft und in verdünntem Glyzerin untersucht (Schweigger-Seidel, 65). Das Glyzerin muß zu den isolierten Stücken sehr vorsichtig zugesetzt werden, damit dieselben durch Strömungen nicht verwickelt, resp. gebrochen werden.

602. Mit gutem Erfolge haben wir für die Isolation der Harnkanälchen kleine frische Stücke der Niere in eine starke, bis auf 40% verdünnte rauchende Salpetersäure auf 2 (bis 4)

Stunden eingelegt. Die Stücke werden mit destilliertem Wasser gewaschen, und man kann unter Umständen durch bloßes Schütteln in einem Uhrschälchen sehr lange Abschnitte isolieren.

Ein sehr gutes Objekt für diese Methode scheint die Niere der Schildkröte (aber auch die der Maus) zu sein, denn wir haben vor Jahren in zahlreichen Fällen im Zusammenhange Ampulle, gewundenes Stück, Henlesche Schleife, Schaltstück, Sammelröhre bis zum Konfluieren mit der nächsten Sammelröhre gesehen. Sind die Präparate gut ausgewaschen, so empfiehlt sich das Nachfärben mit saurem Fuchsin, von welchem man einige Tropfen dem Wasser zusetzt, in welchem die macerierten Stücke gewaschen werden. Untersucht und eingeschlossen werden die gezupften Präparate in mit Wasser verdünntem Glyzerin, welches vorsichtig an Stelle des Wassers substituiert wird.

603. Eine Methode, die rasch zum Ziele führt, die Zellen aber unkenntlich macht (zerstört), ist die Anwendung der konzentrierten Kalilauge. Kleinere Stücke einer frischen Niere werden auf 1—1½ Stunden in konzentrierte Kalilauge gelegt. Die so behandelten Stücke werden in dieser Flüssigkeit zerzupft und untersucht; man hüte sich, Wasser hinzuzusetzen.

604. In analoger Weise, wie in der Leber die Gallenkapillaren, kann man in der Niere mit Indigokarmin die Harnkanälchen zur Anschauung bringen (Chrzonszczewsky, siehe § 571).

605. Will man Näheres über die **Epithelien** der Harnkanälchen erfahren, so fixiere man ganz kleine Stücke der Niere in Sublimat oder Flemmingscher Flüssigkeit. Die Schnitte führe man so, daß man entweder die Kanälchen längs im Schnitte oder aber bestimmte Abschnitte senkrecht auf die Längsachse derselben trifft.

Sehr günstig für die Untersuchung des Epithels der Bowmanschen Kapsel und dessen Übergang in das gewundene Kanälchen ist nach Benda (87a) die Mäuseniere.

606. Um Epithelien isoliert zu bekommen, empfiehlt sich die Macerierung kleiner Stücke in Ranvierschem Alkohol (siehe § 262) oder nach R. Heidenhain (80) in 5%iger Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak, in welchem besonders klar die Stäbchenstrukturen bestimmter Abschnitte der Zellen der Harnkanälchen zum Vorschein kommen sollen.

607. Imprägnationen mit Silbernitrat (mit der Methode von Golgi oder von Cox, siehe § 477 und 480) liefern wichtige Aufschlüsse über die gegenseitigen Beziehungen der Zellen der Harnkanälchen, Böhm und v. Davidoff, 95.

608. Zur Darstellung der Strichelung der Epithelien empfiehlt Sauer die Carnoysche oder die Perényische Flüssigkeit, 3—5 Stunden. Übertragen in absoluten Alkohol, sehr vorsichtiges Übertragen in Paraffin mit Einschaltung von Zwischenflüssigkeiten (siehe § 81). — Färben: 1 bis 2 Stunden 1,5 %ige Eisenalaunlösung. Spülung mit Wasser, Hämatoxylin (0,5 %iges Hämatoxylin 100 + 5 ccm einer 1 %igen Kalium hypermanganicum-Lösung) 3 Stunden, Eisenalaunlösung, Wasser, Alkohol 90 %ig, Rubin S. (2 bis 3 Tropfen auf 15 ccm 90 %igen Alkohol) wenige Minuten (Membranae propriae und Bürstenbesätze werden intensiv rot).

609. Am **Ureter** und der **Harnblase** wird man namentlich auf das Studium des Epithels einige Zeit verwenden, indem man die erwähnten Organe im kollabierten und dann im gedehnten Zustande untersucht. Letzterer wird dadurch hervorgerufen, daß man den Ureter, resp. die Harnblase, prall mit derselben Flüssigkeit injiziert, in welcher man sie (nach Unterbindung) zu fixieren beabsichtigt. In letzterem Falle erscheint das Epithel außerordentlich niedrig, in einer bestimmten Weise gedehnt, aber kontinuierlich. (Eine ähnliche Dehnung der Epithelien kann man in allen epithelialen Röhren beobachten.) London (81) und Kann (89).

610. **Nebenniere.** Chromsäure, chromsaure Salze und deren Mischungen, angewendet in der gewöhnlichen Weise, färben die Marksubstanz der Nebenniere eigentümlich braun. Dieses Verhalten findet auch bei den Tieren statt, bei welchen Mark und Rinde getrennt liegen (Eberth, 71/72, vgl. H. Rabl, 91. Es ist schwer, die Nebenniere tadellos zu fixieren; man nehme frisches Material und sehr kleine Stücke.

Das in den Zellen der Rinde der Nebenniere vorhandene Fett ist nicht mit dem gewöhnlichen Körperfett identisch, es löst sich nach Osmierung in Chloroform und Bergamottöl (H. Rabl, 91).

15. Kapitel.

Geschlechtsorgane.

611. Für das Studium der **Ovarien** wähle man, je nachdem man reifere oder sich entwickelnde Follikel und Eier untersuchen will, das Material. Dabei diene als leitend die Berücksichtigung der Brunstzeit, Eierlegen usw.

612. Will man die Entwicklung der Follikel und Eier studieren, so wähle man embryonales Material oder junge Tiere.

613. Die unreifen, sehr kleinen Eier der niederen Wirbeltiere, Fische, Amphibien, auch Reptilien und Vögel kann man dazu benutzen, um sich daraus frische Präparate anzufertigen. Man braucht nur die unreifen, ganz hellen (gewöhnlich dorsal liegenden) Partien des Eierstockes aufzusuchen, mit einer Schere herauszuschneiden, auf einem Objektträger in einer indifferenten Flüssigkeit auszubreiten und mit schwacher Vergrößerung zu untersuchen.

Will man bei stärkerer Vergrößerung untersuchen, so muß man die kleineren Eier isolieren und vorsichtig mit einem mit Schutzleisten oder Wachsfüßchen versehenen Deckglase bedecken.

An größeren Eiern, welche man in Sublimat oder Sublimat-Eisessig fixiert hat, mit Boraxkarmin überfärbt und ein paar Tage vorsichtig mit einer $^1/_2$%igen Salzsäure in 70%igem Alkohol ausgezogen hat, bis Chromatin allein exakt gefärbt erscheint, kann man durch Zupfen die relativ großen Keimbläschen unter der Lupe isolieren und in Kanadabalsam einschließen. Rückert 92.

614. Aber es gelingt auch, die viel kleineren Eier der Säugetiere zu isolieren. Man führe zu diesem Zwecke mit einem scharfen Rasiermesser einen Schnitt durch ein frisches Ovarium. Die Oberfläche wird mit wenig indifferenter Flüssigkeit benetzt und mit einem Skalpell oder mit der Rasiermesserklinge selbst geschabt. Es werden infolge des sanften Druckes zahlreiche unreife Follikel die Eier in die indifferente Flüssigkeit entleeren, und wenn man diese auf einen Objektträger überführt und mit einer schwachen Vergrößerung untersucht, so findet man das Gewünschte in zahlreichen Exemplaren.

Einzelne davon werden ins Auge gefaßt, die übrigen samt der Flüssigkeit auf einen anderen Objektträger übertragen, um später untersucht zu werden. Es wird ein

Deckgläschen mit Vorsicht (eventuell mit Schutzleistchen) darauf gelegt, und es ist nun möglich, mit einer stärkeren Vergrößerung zu untersuchen.

615. Die Fixierung der so isolierten Eier auf dem Objektträger, z. B. mit Osmiumsäure durch Räuchern oder durch Zugießen derselben unter das Deckgläschen, ist möglich, man mufs aber bei der Überführung der so fixierten Eier in Glyzerin oder Alkohol außerordentlich vorsichtig sein, indem man mit den schwächsten Konzentrationen derselben anfängt und dieselbe ganz allmählich steigert, um schließlich zu der gewünschten zu gelangen.

616. Die **reifen Eier**, welche bei unseren einheimischen Fischen, Amphibien und Reptilien verhältnismäfsig voluminös und im großen und ganzen undurchsichtig sind, kann man nicht ohne weiteres bei durchfallendem Lichte untersuchen; wohl sieht man manches bei auffallendem, wobei entweder Lupe oder die schwächsten Objektive des zusammengesetzten Mikroskops in Betracht kommen, aber nur das Zerlegen der Keimscheiben in Schnitte gestattet eine nähere Einsicht.

617. Weit günstiger in dieser Beziehung sind die reifen Eier der Säuger. Ovarien der erwachsenen Tiere unmittelbar vor oder während der Brunstzeit liefern solches Material.

Die größten reifen Follikel, die sich sehr gespannt anfühlen, werden mit einer scharfen Nadel so angestochen, daß der in einem Strahl austretende, das Ei mit der Zona radiata enthaltende Liquor folliculi nicht in die Höhe spritzt (O. Schultze, 97), sondern in ein Uhrschälchen fließt. Der Inhalt wird mit Vorsicht unter einer Lupe untersucht und das Ei mit der Zona radiata meist gefunden; es wird vorsichtig mit einer Pipette auf einen Objektträger übertragen, ein Deckglas mit Schutzleistchen (diese sind hier unbedingt nötig) aufgelegt und untersucht.

Wendet man keine Schutzleistchen an, so drückt das Deckgläschen auf das immerhin ziemlich voluminöse Gebilde, und es zeigt alsbald die Zona pellucida einen in der Sehebene liegenden strichförmigen Riß (künstliche Mikropyle!), was durch die Druckrichtung bedingt ist. Dieser vergrößert sich allmählich unter steigendem Drucke.

618. Auch solche Eier können wie die unreifen (siehe § 615) fixiert werden; aber hier erfordert es noch mehr Geduld und Übung, um einigermaßen brauchbare Präparate zu erzielen.

619. Um Übersichtsbilder durch Eierstöcke zu erlangen, führen die im allgemeinen Teile angegebenen Methoden mehr oder weniger zum Ziele; vor allem die Flemmingsche Lösung, welche neben anderen Vorzügen den hat, daß sie die komplizierten Strukturen des Eiprotoplasmas, sowie auch die Zona pellucida, vorzüglich erhält. Safranin als Farbe ist hier wohl geeignet.

Sublimat und Zenkersche Flüssigkeit geben z. B. ebenfalls instruktive Bilder; man färbt am besten mit Karmin oder Hämatoxylin. Bei diesem letzteren liefert die Kombination mit Eosin demonstrative Bilder.

620. Man wählt am zweckmäßigsten zur Orientierung Eierstöcke kleiner Tiere, wie Mäuse, Ratten, Fledermäuse etc., da dieselben sich viel besser fixieren lassen und leichter zu haben sind. Große Ovarien, Kuh, Mensch, lassen sich nicht gleichmäßig in oben angeführter Flüssigkeit durchfixieren. Man fixiere deshalb in diesem Falle entweder kleinere Stücke wie oben, oder greife zu chromsauren Salzen (siehe § 29 ff.).

621. Das **Keimepithel**, das auf dem Schnitt gut sichtbar ist, kann auch von der Fläche durch Versilberung dargestellt werden (siehe § 270). Das Ovarium wird mit Alkohol nachbehandelt, und ein dünner tangentialer Schnitt zeigt die Silberlinien des Keimepithels.

Ganz kleine Ovarien junger Mäuse, Fledermäuse etc. lassen sich nach der Versilberung im ganzen einschließen und die Silberlinien des Keimepithels bei passender Einstellung beobachten.

622. **Tuben** werden wie Darm behandelt. Da aber die Tube sehr stark und vielfach gewunden ist, so ist es, falls es auf genaue Querschnitte ankommt, notwendig, die Tube vor dem Fixieren zu strecken, indem man zuvor die peritoneale Duplikatur möglichst nahe der Anheftungsstelle der Tube mit einer krummen Schere entfernt, welche Operation bei kleinen Tuben, z. B. von Fledermäusen, einer großen Übung bedarf. Auch Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit in die Tube nach Abschneiden der Mesosalpinx vor dem Übertragen in die Fixierungsflüssigkeit ist anzuraten. Man sieht dabei, daß sehr viele Falten sich ausgleichen.

623. Der **Uterus** wird ebenfalls nach der Methode, die im Abschnitt Darm angegeben worden ist, behandelt. Schlauchförmige Uteri bestimmter Tiere, namentlich junger, ganz kleiner Tiere, Mäuse etc., dann Katzen, Hunde, Schafe, lassen sich mit der Fixierungsflüssigkeit, bevor

sie in dieselbe eingelegt werden, ebenfalls einspritzen, wobei die Tube, wenn dies erwünscht ist, mitbehandelt werden kann. Die Weiterbehandlung ist die gewöhnliche.

624. Das Flimmerepithel der Tube und des Uterus kann nach dem Aufschneiden der Organe abgeschabt und frisch untersucht, auch können kleinere Fetzen davon entnommen, fixiert und geschnitten werden (siehe § 260 ff.).

625. Die Scheide behandle man wie Oesophagus oder Haut.

626. Die **Spermatozoen** und deren Bewegungen kann man frisch untersuchen. Eine aus den Samenwegen oder einem frisch gemachten Schnitt durch einen Nebenhoden entnommene geringe Menge Samenflüssigkeit wird mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und direkt eventuell auf dem heizbaren Objekttisch beobachtet. Spermatozoen von Salamandra atra und maculosa lassen mit Leichtigkeit schon bei mittlerer Vergrößerung alle bis jetzt beschriebenen Bestandteile (Spieß, Kopf, Mittelstück, Schwanz, undulierende Membran, Randfaden etc.) erkennen. Man vergesse nicht, Wasser zuzusetzen; dieses sistiert bald die Bewegungen. Schwache Säuren und Alkalien wirken ähnlich wie bei der Flimmerbewegung.

627. Für Anfertigung von Dauerpräparaten verfährt Ewald (97) wie für Blut und isolierte Epithelien (s. § 267.)

628. In den Spermatozoen färbt sich der Kopf mit Kernefärbemitteln und das Verbindungsstück mit dem Reagens auf Centrosomen, der Metallsalz-Hämatoxylinfärbung schwarz. Bei dieser Färbung kommt es nicht auf die Anwendung des Ferriammonsulfates an, sie gelingt auch mit anderen Eisensalzen, sowohl mit Ferri-, als mit Ferroverbindungen, sowohl mit Sulfaten, als mit Chloriden, ja auch mit anderen Metallsalzen, z. B. Kupfersalzen (R. Fick, 93 a).

629. An macerierten Spermatozoen, z. B. mit sehr verdünnter Chromsäure, aber auch in einer längere Zeit in der feuchten Kammer sich selbst überlassenen Samenflüssigkeit, sieht man nicht selten die fibrilläre Struktur des Rand- und Achsenfadens, namentlich bei Zusatz von einer sehr verdünnten Gentianaviolettlösung in Wasser. (Ballowitz, E 88.) Auch können die Spermatozoen als Trockenpräparate (wie Blut) aufgehoben und nachträglich (z. B. mit Safranin) gefärbt werden. Die Osmiumsäure, deren Gemische und Osmiumsäuredämpfe konser-

vieren die Spermatozoen gut. Manche Strukturen kommen hier besser als bei Trockenpräparaten zum Vorschein.

630. Hoden. Für die Untersuchung der Spermatogenese ist die Wahl des Materials von Belang (Jahreszeit, Alter, Größe der Elemente etc., bei verschiedenen Tieren). — Man muß im Auge behalten, daß, wenn die Hoden vor der Fixierung zerstückelt werden, die Samenkanälchen durch Hervorquellen disloziert werden. Hermann, 93).

631. Orientierungspräparate beschafft man sich dadurch, daß man kleinere Hoden in gewöhnlicher Weise etwa mit Sublimat oder Pikrinsäure fixiert. Für die feineren histogenetischen Vorgänge ist die Flemmingsche Lösung in angegebener Weise (siehe § 42) anzuwenden; nachträgliche Färbung auf dem Objektträger mit Safranin.

632. Mit sehr gutem Erfolge wendet man die von Hermann (93) empfohlene Flüssigkeit:

für Säugetiere	1%iges	Platinchlorid	75 ccm
	2%ige	Osmiumsäure	20 »
		Eisessig	5 »
für Salamander	1%iges	Platinchlorid	75 ccm
	2%ige	Osmiumsäure	10 »
		Eisessig	5 » an.

Man lasse die Flüssigkeit auf nicht zu große Stücke 24 Stunden lang, besser länger (wie bei Flemmingscher Lösung) einwirken, wasche mit Wasser aus und entwässere mit Alkohol von allmählich steigender Konzentration 50, 70, 90%.

So fixierte, auf dem Objektträger aufgeklebte Paraffinschnitte können entweder mit Safranin-Anilinwasser allein nach der Formel:

1 g Safranin
10 ccm abs. Alkohol
90 ccm Anilinwasser

24—48 Stunden lang gefärbt und dann mit Wasser abgespült, saurem Alkohol und Alkohol absol. (siehe § 206) behandelt oder nach einer solchen Färbung nach der Gramschen Methode nachgefärbt werden, d. h. auf 3—5 Minuten in Gentianaviolettlösung (gesättigte alkoholische Lösung 5 auf 100 Anilinwasser [Anilinöl 4 wird mit 100 ccm dest. Wasser geschüttelt und filtriert]) gefärbt, in Alkohol flüchtig abgespült und mit Jod-Jodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 1—3 Stunden behandelt werden, bis die Schnitte vollkommen schwarz werden; nun werden sie in

Alkohol übertragen, bis sie violett mit einem Stich ins Bräunliche werden. Die Chromatinnetze der ruhenden Kerne, sowie auch im Spirem- und Dyspiremstadium erscheinen blauviolett, die echten Nukleolen rot tingiert. Im Aster-Dyasterstadium dagegen färbt sich das Chromatin rot usw. (siehe Hermann, 93).

Die Protoplasmastrukturen sind ebenfalls sehr deutlich sichtbar und gelbbraun tingiert. Die Köpfe, die Mittelstücke, Schwänze, Spiralfäden etc. erscheinen deutlich und in verschiedenen Farben rotblau, violettblau etc.

Hermann (91) legt kleine Objekte (z. B. Proteushoden) in: Hämatoxylin 1 g, absoluten Alkohol 70, Wasser 30 auf 12—18 Stunden im Dunkeln. Auswaschen in 70%igem Alkohol im Dunkeln. Paraffinschnitte, Ausziehen mit hellrosa Kaliumpermanganat, bis sie ockerfarbig werden, weitere Entfärbung mit 5—10fach verdünntem Palschem Gemisch (siehe § 494). Safranin 3—5 Minuten. Besonders geeignet zur Hervorhebung der achromatischen Elemente, Zentralkörper etc.

633. Für das Studium der Spermatogenese empfiehlt Benda (87 b) folgendes Verfahren: In Flemmingscher Lösung konservierte Hodenstücke werden geschnitten, aufgeklebt und 24 Stunden im Thermostat auf 38—40° C in einer sehr starken Lösung von Kupferoxyd gelassen. Sie werden sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und kommen in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung, bis sie intensiv schwarz werden, was etwa 5 Minuten in Anspruch nimmt. Sie kommen dann in eine 1/3%ige wässerige Salzsäurelösung, bis die Schnitte gelb werden, und aus dieser in die Kupferlösung zurück, worin sie so lange bleiben, bis sie violettblau werden. Dann werden sie mit destilliertem Wasser abgespült, mit Alkohol behandelt und in Kanadabalsam übergeführt.

16. Kapitel.

Embryologische Technik.

634. Es bietet sich bei uns Gelegenheit, **Embryonen, resp. abgelegte befruchtete Eier**, mit Leichtigkeit zu erlangen, daher lassen wir einige diesbezügliche Notizen und Erfahrungen hierüber folgen.

635. Im Frühjahr und im Sommer hat man Gelegenheit, zahlreiche Eier und Kokons verschiedener **wirbelloser** Tiere, namentlich Schnecken, in den stehenden Gewässern, Bächen, die nicht rasch fließen usw., zu sammeln, was, wenn die Eier nicht zu weit entwickelt sind, allgemein interessantes

Beobachtungsmaterial abgibt. Man kann beispielsweise das Austreten der Richtungskörperchen an der Tellerschnecke und weiter die Furchung frisch am lebenden Ei beobachten. Anleitung hierzu gibt Häcker (99).

636. In dem im Darm der Pferde (namentlich im Winter) vorkommenden Spulwurm Ascaris megalocephala hat man ein verhältnismäßig leicht zu beschaffendes Objekt für das eingehendste Studium der Befruchtung sowohl, als der Teilungsvorgänge an sich furchenden Eiern. In den verschiedenen Regionen der Eiröhren desselben Tieres findet man zahlreich die verschiedensten Stadien: Eindringen des Zoosperms, Bildung des Spermakerns, Bildung der Richtungskörper etc. bis zur Furchung. Die Ascaris der Pferde kommt in zwei Varietäten vor: die eine hat vier und die andere, selten vorkommende, gar nur zwei Chromosomen in den somatischen Zellen (Boveri).

637. Man verfährt nach Häcker folgendermaßen:

Am besten werden die Eiröhren der Würmer unmittelbar nach der Herausnahme der letzteren aus dem Darm des eben geschlachteten Pferdes in die Konservierungsflüssigkeit gebracht. Ist ein Transport über kürzere Strecken notwendig, so empfiehlt es sich, die Würmer innerhalb des durch zwei Ligaturen geschlossenen Darmes zu behalten (Herla) oder sie in warmem Pferdemist zu verpacken.

Boveri (87) verwandte behufs Darstellung der achromatischen Strukturen Pikrin-Essigsäure (konzentrierte wässerige Lösung von Pikrinsäure wird mit zwei Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung dann 1% Eisessig zugesetzt).

Nach 24 stündiger Behandlung mit dieser Flüssigkeit und nach sehr sorgfältigem Auswaschen mit 70%igem Alkohol kommen die Eiröhren auf 24 Stunden in Grenachers alkoholischen Boraxkarmin, 24 Stunden in 70%igen Alkohol mit 1%iger Salzsäure, dann in reinen Alkohol. Bringt man dann die Eiröhren aus dem Alkohol in eine Mischung von 1 Teil Glyzerin auf 3 Teile Alkohol abs. und läßt diese so lange stehen, bis der Alkohol verdunstet ist, so erhält man die Eier ohne alle Schrumpfung.

Kostanecki-Siedleckische Schnittmethode. Kostanecki und Siedlecki haben u. a. mit Sublimat (Sublimat heiß in physiologischer Kochsalzlösung bis zur Sättigung gekocht und abgekühlt), Sublimat + 3% ige Salpetersäure und mit einer Lösung aus gleichen Volumteilen Sublimat

(wässerige, konzentrierte Lösung), Eisessig und Alkohol abs. gearbeitet. Nach 24 Stunden Übertragung in schwachen Alkohol (plus etwas Jodtinktur), dann je 24 Stunden in Alkohol von 50, 70, 90, 95, 100% Einführung der vollen Eileiter in Chloroform + Alkohol abs. (1 : 2), dann Chloroform + Alkohol abs. (2 : 1), dann reines Chloroform. Die weitere Behandlung erfordert wegen der Härte und Dicke der Eihüllen besondere Vorsicht. Es werden in dem Chloroform bei Zimmertemperatur kleine Stückchen Paraffin (Schmelzpunkt 48° C) aufgelöst, bis eine kalt konzentrierte Lösung von Chloroform-Paraffin entsteht. Dasselbe Verfahren wird bei 30° C (obere Fläche des Thermostates) bis zur Sättigung wiederholt. »Dann ließen wir die Temperatur auf 40° C allmählich steigen und übertrugen die Objekte in Chloroform-Paraffin ā ā, nach einigen Stunden bei steigender Temperatur in Paraffin-Chloroform (3 : 1) und endlich in Paraffin von 48° C, dann in ein Gemenge von zwei Paraffinsorten (Schmelzpunkt 48° C und 52° C), worauf sie eingebettet wurden. Hierbei muß man beachten, daß die Eier nicht länger als höchstens 8 Stunden der Temperatur über 35° C ausgesetzt werden, sonst treten starke Schrumpfungen ein. Die 5—10 μ dicken Schnitte werden mit Wasser aufgeklebt, mit Bordeaux vorgefärbt und mit Heidenhainschem Hämatoxylin-Eisenlack gefärbt.«

638. Fischeier sind gelegentlich das ganze Jahr hindurch zu bekommen. Bei den meisten kann man frisch an der Oberfläche den Keim bei günstiger Beleuchtung sehen und studieren.

Die Laichzeit einiger Fische notieren wir nach dem bayerischen Königskalender (83) und nach H. Stork: Äsche: März, April; Amaul: April, Mai; Barbe: Mai, Juni; Barsch: März, April, Mai; Bartgrundel (Schmerle): März, April; Elritze: Mai, Juni; Felchen: November, Dezember; Forelle: Oktober, November, Dezember; Gareisl (Karausche): Juni; Gründling: Mai, Juni; Hecht: April, Mai; Huchen: April; Karpfen: Mai, Juni; Kaulbarsch: April, Mai; Lachs: September, Oktober, November; (Fluß-)Neunauge: April; Quappe: Januar; Renke: November, Dezember; Rotauge: April, Mai; Saibling: Juni, Oktober, November; Schleie: Mai, Juni; Waller (Wels): Juni, Juli.

639. Man kann sehr leicht bei den Fischen eine sogenannte künstliche Befruchtung der Eier vornehmen.

Zur Zeit, wo die Geschlechtsprodukte reif sind, was man daran erkennt, daß beim leichten Streichen der Bauchseite die Geschlechtsprodukte, Eier, resp. Sperma (Milch), ohne weiteres abgegeben werden, verfahre man folgendermaßen: In eine reine Schüssel werden die Eier eines Rogners durch mehrfaches sanftes Massieren vom Kopf bis zur Analöffnung zum Austritt gebracht. Man darf dieses Verfahren nur so lange fortsetzen, bis eine Spur Blut aus der Analöffnung herauskommt. Es wird wenig Milch in derselben Weise gewonnen und auf die Eier möglichst gleichmäßig verteilt, dann das Ganze ohne jeglichen Zusatz (trockene, sog. russische Methode) umgerührt, etwa mit der Fahne einer Gänsefeder, dann wird Wasser zugesetzt, und zwar so viel, daß die Eier reichlich damit bedeckt werden. Es wird wiederum einige Minuten gewartet (bis 10 Minuten), das mit Milch getrübte, weißlich aussehende Wasser abgegossen und durch frisches so oft ersetzt, bis die Trübung nicht mehr wahrzunehmen ist. Die Besamung ist vollzogen, und man kann die Eier in reinem fließendem, z. B. Wasserleitungswasser, zur Weiterentwicklung bringen. Für diesen Zweck gibt es ganz spezielle Apparate.

640. Die künstlich befruchteten Forelleneier kann man, unmittelbar nach der Besamung beginnend, öfter (etwa alle 5 Minuten) nach § 643 konservieren (die Eihaut darf man nicht entfernen) bis zum Auftreten der ersten Furche etwa. — An solchem Material, welches man schneidet und passend färbt, kann man die Befruchtung — eingedrungenes Zoosperm, Bildung der Richtungskörper, des Eikernes, des Furchungskernes etc. — bequem studieren.

Wir heben hier die Vorzüge dieses Objektes hervor: Leichtigkeit der Beschaffung kontinuierlicher Serie, relative Leichtigkeit der Konservierung, Klarheit der Bilder. Wir empfehlen dieses Objekt für Demonstrationen und Studium.

H. Blanc bedient sich folgender Methode: Forelleneier, welche nach der russischen Methode befruchtet sind, werden in Pikrinschwefelsäure und Eisessig fixiert (600 Vol. Wasser, 2 Vol. Schwefelsäure, 100 Vol. konzentrierte Pikrinsäure und 8 Vol. Eisessig). Die Eier können in dieser Flüssigkeit einige Stunden bleiben, ein längeres Verbleiben schadet keineswegs. Die Eier werden sodann in einer 10%igen Essigsäure eröffnet, welche den Dotter löst und die Extraktion des Keimes mit Hilfe einer Lanzette und des Pinsels erlaubt. Die Keimscheiben werden mit 80 bis 90%igem, dann absolutem Alkohol behandelt, mit Borax-

karmin gefärbt und in toto in Balsam oder Glyzerin eingeschlossen. Bei jungen Stadien muß man den animalen Pol des Eies abschneiden, man erhält dann die Keimscheibe und die Schalenhaut.

641. Die leichteste Methode für rasche Orientierung über die Keime und Embryonen ist das Fixieren der frischen Eier in einer $^1/_3$%igen Chromsäure 12—24 Stunden. Man übertrage alsdann die Eier in fließendes Wasser, nach einigen Stunden hebt sich die Eischale etwas ab, was allerdings eine geringe Kompression des Eies bedingt. Ist die Eihaut abgehoben, so kann man den Teil des Eies, welcher die Keimscheibe enthält, indem man das Ei mit der linken Hand festhält, mit einem scharfen Rasiermesser abschneiden. Die so abgetragenen Segmente werden noch weiter mit Wasser gewaschen, bis die gelbe Farbe die Embryonen, resp. die Keime, vollständig verläßt. (Der Dotter bleibt immer etwas gefärbt.)

642. Für die Untersuchung von jungen Forellen-Keimscheiben empfiehlt H. Virchow (Kopsch, 98) eine Vorbehandlung der ganzen Eier mit Chromsäure 2, destilliertem Wasser 900, Eisessig 100 etwa 10 Minuten lang; für Embryonen mit kleinerwerdendem Dotterloch eine etwas kürzere Zeit bis zu 5 Minuten. Die Eier werden in eine 2‰ige wässerige Chromsäure gebracht und dann einzeln, wenn möglich sofort, weiter behandelt: Man überträgt das Ei in eine physiologische Kochsalzlösung, eröffnet dasselbe schonend, entfernt die Eihaut und bläst den nicht geronnenen Dotter von der Keimscheibe mit einem mit der erwähnten Kochsalzlösung gefüllten, fein ausgezogenen Röhrchen weg. So vom Dotter gereinigte Keimscheiben fixiert man nun vollends, z. B. mit Sublimat (2 St.), Flemmingschem Gemisch (sorgfältiges Auswaschen!) usf. Derart behandelte Keimscheiben bieten gute Oberflächenansichten und lassen sich gut in Paraffin schneiden.

643. Gute Resultate erzielt man (sehr junge Forellenkeime) mit Sublimat-Eisessig. 80 ccm konz. wässerige Sublimatlösung und 20 ccm Eisessig läßt man $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden lang einwirken. Die so fixierten Eier werden in 70%igen Spiritus übertragen, und nach 1 Stunde werden, wie dies in § 641 bereits angegeben worden ist, die Keime mit dem Rasiermesser abgeschnitten. Die weitere Behandlung wie bei Sublimat (siehe § 51), nur darf man zum Aufbewahren keinen stärkeren Alkohol wie 85%igen anwenden. Noch besser ist folgende Methode: Die Eier kommen in eine

stärkere Sublimat-Eisessiglösung (20%ig) und schon nach weniger wie einer halben Minute trübt sich der Keim — ist also abgetötet. Alsdann überträgt man die Eier in eine schwächere (5%ige) Sublimat-Eisessiglösung, resp. gießt die nötige Menge reiner Sublimatlösung hinzu; nach $^3/_4$ Stunden etwa kommen die Eier in 70%igen Spiritus (mit ein paar Tropfen Jodtinktur), und wiederum nach ca. $^3/_4$ Stunden wird die den Keim enthaltende Kugelkalotte sorgsam mit einem Rasiermesser mit Eihaut und möglichst wenig Dotter abgetragen. Die Keime dürfen nicht mit stärkerem Spiritus als 80%igem in Kontakt kommen. In dieser Weise konserviertes Material läßt sich mit gewisser Übung (auch ohne Anwendung der kombinierten Zelloidin-Paraffinmethode) nach Durchtränkung mit Paraffin allein mit der Eihaut in lückenlose Serien zerlegen (A. Böhm, 91).

644. Es muß als allgemeine Regel gelten, daß das gesamte Fischmaterial möglichst rasch bearbeitet werde; denn werden die Eier längere Zeit in Spiritus aufgehoben, so wird, wenn derselbe auch schwach gewählt wird, die Dottersubstanz doch so hart und brüchig, daß man sie gar nicht mehr, wenigstens mit gewöhnlicher Paraffindurchtränkung, schneiden kann. Mit reiner Zelloidindurchtränkung kann man keine für embryologische Zwecke genügend feinen Schnitte erzielen. Die kombinierte Zelloidin-Paraffinmethode führt hier manchmal noch zum Ziele. Liegen aber solche Eier ein paar Jahre in Spiritus, so lassen sich zwar die Keime und Embryonen bei großer Übung mit Starnadeln und Skalpellspitzen absprengen und weiterschneiden, aber der Dotter nicht mehr.

Man kann solche Objekte aber in gewöhnlicher Weise durch Chloroform in Paraffin einbetten und in diesem beliebig lange Zeit aufbewahren.

Diese Methode kann selbstverständlich auch für andere Objekte mit Vorteil angewandt werden und empfiehlt sich ganz besonders als zweckmäßig für Amphibieneier.

645. Amphibien. Ende März bis Mitte April findet man in Teichen, Pfützen und Bächen Frosch- und Krötenlaich. Die Frösche laichen in Klumpen, die Kröten in Schnüren. Solche Eier kann man schon frisch der Untersuchung unterwerfen und bei auffallendem Licht beispielsweise die Furchung studieren.

Die Paarungszeit ist bei uns: Triton alpestris März bis Mai; T. cristatus April bis Juni; T. taeniatus Mai; Rana esculenta Mai und Anfang Juni; R. temporaria

März; Pelobates fuscus Anfang April; Bombinator igneus Mai und Juni; Alytes obstetricans zweimal im Jahre (Frühjahr und Herbst); Bufo vulgaris und variabilis April; B. calamita im Frühjahr, zuletzt unter den Kröten (vgl. darüber auch A. Franke, 81).

646. Bei verschiedenen Amphibien ist die künstliche Befruchtung möglich. Beim Frosch verfährt man folgenderweise: Eier aus dem Eileiter oder der Leibeshöhle kommen trocken in eine Schale und werden mit Samenwasser, d. h. dem Inhalt der Samenbläschen oder zerquetschter Hodenstücke, mit wenig Wasser übergossen; nach 5—10 Minuten gießt man das Samenwasser ab und ersetzt durch gewöhnliches, welches öfters zu erneuern ist. Die Eier entwickeln sich dann weiter, nur die die Eier bedeckende Schicht Wasser darf nicht zu hoch sein — höchstens 1 cm.

647. O. Schultze (99) hat durch jahrelange Versuche an Froscheiern eine Fixierungsmethode herausgefunden, welche ihn nun befriedigt. Nach der Entfernung der Gallerthülle bis auf die die Dotterhaut umgebende innerste Gallertschicht kommen die Eier für 5 Minuten in eine 2%ige (20mal verdünnte) wässerige Formalinlösung von 75—80° C. Sie sterben momentan ab, die Hüllen heben sich vom Ei ab, und dieses kann mit Leichtigkeit mit Nadeln herausgeholt werden. Die Eier nehmen eine elastische, lederähnliche Konsistenz an bei ausgezeichnet erhaltenen Oberflächenzeichnungen und lassen sich ideal schneiden; sie lassen sich monatelang in der 2%igen Formalinlösung in den schützenden Hüllen aufheben, ohne dabei ihre guten Eigenschaften zu verlieren. O. Schultze (99) empfiehlt für die Durchtränkung mit Paraffin folgenden Weg: Geschälte Eier kommen aus der Formalinlösung in 70%igen, dann 95%igen Alkohol, dann in Bergamottöl je 2 Stunden mindestens, darauf auf 10 Minuten in einmal gewechseltes Paraffin und werden dann eingebettet. Ob diese Methode für andere dotterreiche Eier sich ebensogut eignet, hat O. Schultze nicht erprobt.

648. O. Hertwig (83) behandelt die Eier mit einem auf ca. 90° gewärmten Wasser etwa 5 Minuten. Dann kühlt er die Eier rasch ab, indem er zu dem warmen Wasser kaltes hinzugießt, und schält nun die Eier also: Er faßt die Schleimhülle mit einer Pinzette und schneidet mit einer sehr scharfen Schere dicht am Ei vorbei; es

gelingt oft, schon nach dem ersten oder zweiten Schnitt, bei einer gewissen Übung, den Eiraum zu öffnen, und es fällt dann ohne weiteres das Ei heraus. Das so auspräparierte Ei wird nun mit Spiritus von allmählich ansteigender Konzentration weiter behandelt.

649. Um die Schleimhülle zu entfernen, verfährt Whitman (88) folgendermaßen:

Eine 10%ige Lösung des Natriumhypochlorits wird mit 5—6 Teilen Wasser vermengt. Die durch Hitze oder anders abgetöteten Eier kommen in diese Lösung so lange, bis sie aus der Schleimhülle herausfallen.

650. Die mit Chrom-Osmium-Essigsäure beispielsweise fixierten Eier können auch, nachdem sie gut mit Wasser gewaschen worden sind, in eine aufs 3—4 fache verdünnte Lösung von aqua Javelli, welche etwa 8% Natriumhypochlorit enthält, kommen. In dieser verbleiben sie 1/4—1/2 Stunde, während welcher Zeit das Gefäß einigemal geschüttelt wird; die von der Gallertschicht befreiten Eier senken sich zu Boden, werden vorsichtig mit Wasser gewaschen und allmählich in stärkeren Spiritus übergeführt (Blochmann, 89).

Auch Eier von Tritonen, die einzeln an Grashalmen etc. abgelegt werden, lassen sich mit gutem Erfolg in derselben Weise fixieren und weiter behandeln.

Zur Fixierung geschälter Amphibieneier ist die Sublimatchromsäure (siehe § 56) geeignet.

651. R. Fick (93b) verfährt folgendermaßen: Die Eier werden mit den Hüllen in Chromessigsäure von Flemming (25 ccm 1%ige Chromsäure + 75 ccm Wasser + 0,1 Eisessig) 24 Stunden fixiert, geschält, 24 Stunden in fließendem Wasser belassen, entwässert (60%iger, dann 80%iger Spiritus je 24 Stunden), mit alkoholischem Boraxkarmin 24 Stunden gefärbt, mit salzsaurem, 70%igem Alkohol ausgezogen; 90%iger Spiritus, Bergamottöl (2 bis 4 Stunden, nicht länger), Paraffin 50° Schmelzpunkt 1/2—1 Stunde (nicht länger, sonst werden die Eier hart und brüchig), schneiden 10—15 μ dick (vgl. O. Schultze, 87).

652. Barfurth (93) empfiehlt Einlegen in Wasser von 80° C. für einige Minuten oder in Chrom-Essigsäure von derselben Temperatur. Mit letzterer Methode fixierte Eier wasche man 24 Stunden mit Wasser, schüttle, wobei die Gallerthülle weggeht. Oder man behandle mit Eau de Javelle der Apotheke, welches man auf das dreifache verdünnt (im Brütofen rascher, wie bei Zimmertemperatur),

wobei bei vorsichtiger Bewegung des Glases die Hülle bald ganz entfernt wird. Vorsicht nötig; Materialverlust! — Weitere Behandlung wie nach Fick-Schultze (siehe § 651). Statt Chromessigsäure kann man Zenkersche Flüssigkeit anwenden. — Objekte in den Hüllen werden am besten konserviert (nach Abtöten im Wasser von 80° C) in: Alkohol 125, Glyzerin 25, Wasser 350; geeignet für Zeichnen und Demonstrieren.

653. Voluminöse Amphibieneier (Salamandra mac. z. B.) färbe man vor dem Schneiden, schneide in weichem Paraffin (45—50° C Schmelzpunkt) und befestige auf dem Objektträger entweder mit folgender, von Born empfohlener Masse: 2 Vol. Kollodium, 2 Vol. Äther, 3 Vol. Öl. Ricini (Strassersche Klebemasse), mit welcher der Objektträger mittels eines Glasstabes in dünner Schicht überzogen wird, oder befestige mit Eiweißwasser (siehe § 145), wobei sich die Falten ausgleichen. Ist ein Objektträger voll, so überstreicht man die ganze, die Schnitte tragende Fläche mit einem weichen Pinsel mit der Kollodium-Rizinusölmischung. Jetzt kommen die Objektträger entweder direkt in Xylol oder nach Eiweißbefestigung durch Spiritus etc. in Kanadabalsam. Absoluter Alkohol muß vermieden werden, daher Stückfärbung (R. Semon).

654. Reptilien. Im Mai, Juni und später trifft man trächtige Eidechsen an, denen man nach geeigneter Tötung die Eier entnehmen kann. Da die Tiere (außer den viviparen) die Eier in ziemlich frühem Stadium ablegen, findet man meistens nur junge Stadien vor.

	Paarung	Geburts-, resp. Legezeit
Lacerta agilis . . .	Mai bis Juni	
» muralis . .	April	Juli
» vivipara . .	Ende April	Mitte Juli
Anguis fragilis . .	Mai	August (sogar Oktob.)
Pelias berus . . .	Anfang April bis Mai	Ende August bis Anfang September
Coronella austriaca .	Mitte April	Ende August bis Anfang September
Tropidonotus natrix	Mitte Mai	Mitte Juli bis Ende August

(Vgl. darüber auch A. Franke, 81.) Selbstverständlich ist hierbei der Standort, von welchem die Tiere bezogen werden, zu berücksichtigen.

655. Man erzielt die besten Resultate, wenn man frisch unter physiologischer Kochsalzlösung die Schalenhaut entfernt, was man nicht schwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pinzette das Ei so faßt, daß sich eine niedrige Falte bildet; diese wird mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. (Ist die Öffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es zur Bildung eines Extraovats, welches in der Regel mit dem Platzen der Dotterhaut, resp. Ausfließen des Dotters, [das Ei geht dabei zu Grunde] endet.) In der Fortsetzung des Schnittes hebe man abermals eine Falte auf und schneide weiter ringsum, bis das Ei aus der Schalenhaut fällt.

656. Ist es gelungen, das Ei, ohne es zu verletzen, von den Eihüllen zu befreien, so wird es mit einem passenden Hornlöffel in die Fixierungsflüssigkeit übertragen, und als solche eignet sich Pikrin-Schwefelsäure 5 Stunden oder Sublimat-Eisessig (siehe § 60 und 641) 1 bis $1^1/_2$ Stdn. mit nachträglicher Behandlung mit reinem Sublimat oder Sublimat-Chromsäure (siehe § 56) 24 Stunden. Nach dieser Frist werden die Eier in Wasser übertragen und die Area embryonalis, resp. vasculosa, mit einer scharfen, spitzen Schere umschnitten und dann mittels eines Hornlöffels in Alkohol übertragen (nach Sublimat: Jodzusatz!).

657. In späteren Stadien der Entwickelung, nachdem sich die Keimblätter bereits differenziert haben, läßt sich der Keim allein nach der Entfernung der Dotterhaut, welche Operation in späteren Stadien keine Schwierigkeit mehr zu machen pflegt, abheben.

658. Bei den jüngeren Stadien entferne man den fixierten Keim mit einer darunter liegenden Dotterschicht und behandle das Ganze weiter.

659. Eine (für den Anfänger namentlich) recht bequeme Methode, die übrigens nicht einmal sehr schlechte Resultate gibt, ist die folgende:

Man übertrage die Eier mit Schalen in Pikrin-Schwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in Pikrin-Essigsäure (konzentrierte wässerige Pikrinsäure wird mit zwei Teilen Wasser verdünnt und dieser Lösung 1% Eisessig zugesetzt [auf das ganze Volumen berechnet]) auf 24 Stunden,

Hierauf überträgt man die Eier in destilliertes Wasser und entfernt darin die Schalenhaut mit Pinzette und Schere, was mit großer Leichtigkeit geschieht. Die weitere Behandlung nach der Entfernung der Eihaut und Heraus-

schneiden des Embryos, resp. Keimes, ist wie die oben angegebene.

660. Man findet gelegentlich zu Haufen abgelegte Eidechsen- und Schlangeneier; diese letzteren enthalten stets spätere Entwickelungsstadien, resistentere Embryonen, die schon spiralig gewunden sein können, an denen man Pulsation des Herzens usw. wahrnimmt.

Die Eier sind gewöhnlich kollabiert, wenn sie etwas eingetrocknet sind, die Embryonen darin brauchen aber nicht tot zu sein. In feuchtem Moos oder ähnlichem nehmen sie die ursprüngliche Spannung wieder an.

661. Junge Reptilieneier (Befruchtung, Furchung, erstere Stadien sind an den dünnen, leicht mit zwei Pinzetten abziehbaren Schalen kenntlich), die man bisweilen im Eileiter findet, fixiere man, wie oben angegeben, nach dem Schälen und übertrage sodann die ganzen Eier in 70%igen Spiritus. Nach 24 Stunden bringe man die Eier in 80%igen Spiritus und schneide nach 2—4 Stunden die Keimscheiben vom Dotter mit dem Rasiermesser ab, indem man die Eier vorsichtig mit den Fingern faßt. Die Keimscheiben können dann weiter behandelt, mit Paraffin durchtränkt und geschnitten werden, Stück- oder Schnittfärbung.

662. Eine Methode, welche uns im Sommer 1893 sehr gute (erprobt an Blindschleichen und Eidechsen) Resultate gegeben hat, namentlich inbezug auf die Ausnützung des Materials, ist folgende: 2—3 Stunden Sublimat-Eisessig (5% von letzterem), dann übertragen in eine gesättigte Pikrinsäure in Wasser 8—12—24 Stunden; es wird in Wasser geschält und ganze Eier oder abgelöste Embryonen, in 70%igen Spiritus übertragen, dann in gewöhnlicher Weise weiterbehandelt. Materialverlust ist bei einiger Übung sehr gering, das Färben mit Boraxkarmin, Hämalaun im Stück gelingt stets, die Konservierung ist tadellos. — Wir heben ausdrücklich hervor, daß sich sehr junge Stadien auf diese Weise ebenfalls behandeln lassen.

663. Das bequemste Material zur Untersuchung von **Vogeleiern** sind die Hühnereier, von denen nur die ersten Furchungsstadien sehr schwer zu bekommen sind. Die Furchung des Hühnereies geht parallel mit der Bildung des Eiweißes und der Schalenhäute (resp. Schalen) im unteren Abschnitt der Tube und im sog. Uterus usw. vor

sich. Das Ei wird im Stadium des durchfurchten Keimes abgelegt, wenn sich eben die Keimblätter zu bilden anfangen (einzelne Vögel, z. B. Kanarienvögel, legen die Eier in viel jüngeren Stadien ab, Rauber, 76). Die weitere normale Entwickelung geht außer dem Mutterleibe bei Luftzutritt bei einer höheren (37—40° C) Temperatur (Bruttemperatur) vor sich und ist nicht schwer zu untersuchen. Das Brüten kann entweder der Henne überlassen werden, oder in einem gewärmten Raume vor sich gehen. Ein beliebiger Thermostat (siehe § 82), auf die geforderte Temperatur geheizt, kann diesem speziellen Zwecke dienen und in einen Brutofen umgewandelt werden, man kann so in bequemer Weise alle möglichen Entwickelungsstadien erlangen. Die Brütedauer beträgt bei der Taube 17—19 Tage, bei Huhn und Ente 21 Tage, Gans 29 Tage, Pfau 31 Tage.

664. Novak gibt für Bearbeitung von jungen Hühnerkeimscheiben mit unterliegendem Dotter folgende Methode an: Nach Entfernung des Eiweißes unter auf 37° erwärmter 0,6%iger Kochsalzlösung zieht man die Flüssigkeit mit einer Pipette ab und substituiert sie durch die Fixierungsflüssigkeit: 0,5% Chromsäure 30 ccm, konzentrierte wässerige Sublimatlösung 30 ccm, Eisessig 3 ccm, destilliertes Wasser 37 ccm. Nach 24 Stunden wechselt man die Flüssigkeit und nach 48 Stunden ersetzt man sie durch 55% Alkohol. 70%, 85% Alkohol, letzterer mit Zusatz von Jodjodkaliumlösung folgen nach; in letzterem Spiritus zieht man die Dotterhaut ab, was leicht zu geschehen pflegt. — Weitere Behandlung wie sonst. —

665. Am leichtesten sind die Keimscheiben vom Ende des zweiten Brütetages an zu präparieren. Zunächst wird die Eischale am stumpfen Pol, wo sich der Luftraum befindet, aufgeschlagen, die Schalenhaut mit einer Pinzette eröffnet und das Eiweiß zum Ausfließen gebracht, während man mit einer starken Schere die Schale entfernt. Man hat dabei auf die Chalazen zu achten und dieselben erst an der einen Seite und dann an der anderen Seite abzuschneiden, indem man sie mit dem Eiweiß durch passendes Neigen und Drehen des Eies zum Ausfließen bringt. Hat man die Schale so weit umschnitten, bis man dicht an der Dotterhaut angelangt ist, wobei das meiste Eiweiß bereits entfernt wurde, so gieße man den Dotter sehr vorsichtig entweder in eine indifferente Flüssigkeit, z. B. eine auf die Bruttemperatur erwärmte $^1/_2$%ige Kochsalzlösung, oder direkt in die fixierende Flüssigkeit. Ist das erstere der

Fall, so ziehe man vorsichtig mit der Pinzette die Reste des Eiweißes in der Region der Keimscheibe weg, man beobachte dabei frisch, was zu sehen ist, Pulsation des Herzens etc. und umschneide mit einer scharfen Schere den Keim um den Sinus terminalis. Die Dotterhaut, falls sie nicht von selbst abgegangen ist, wird durch sanftes Anfassen derselben mit Pinzette entfernt und der Keim auf einem Spatel oder einem Uhrschälchen aufgefangen, die Kochsalzlösung möglichst abgegossen und die Fixierungsflüssigkeit tropfenweise auf den Embryo selbst gebracht. Als Fixierungstlüssigkeit kann man bei Vogel-Embryonen Salpetersäure, Pikrinschwefelsäure usw. für Orientierungspräparate, oder Flemmingsche, Zenkersche Lösung für Studienzwecke anwenden.

Man kann aber auch folgendermaßen verfahren: Der Dotter, mit möglichst wenig Eiweiß, wird in die Fixierungsflüssigkeit übertragen. In dieser koagulieren die Reste des Eiweißes allmählich und werden mit Pinzette, resp. Pinsel, schichtenweise entfernt, bis die Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen bloßliegt. Das Ei wird in dieser Fixierungsflüssigkeit, je nach derselben, längere oder kürzere Zeit belassen, z. B. in einer 3—5%igen Salpetersäure 2—3 Stunden, Pikrinschwefelsäure 3—4 Stunden, Sublimat-Eisessig 2 Stunden und dann Sublimatlösung allein 24 Stunden usw. Nach dieser Zeit werden die Keime ganz oder in älteren Stadien um den Sinus terminalis umschnitten und weiterbehandelt, die Dotterhaut durch Schütteln des Keimes in einer Uhrschale, resp. durch sanftes Ziehen mit der Pinzette, entfernt; aus der Salpeter- und Pikrinschwefelsäure in 70%igen Spiritus usw. nach den bekannten Regeln übertragen.

Verfolgt man spezielle Zwecke, so steht der Anwendung anderer Fixierungsflüssigkeiten nichts im Wege.

666. Da sich die Dotterhaut und der Dotter am leichtesten in Salpetersäure entfernen lassen, so ist es zweckmäßig, die Behandlung mit Salpetersäure, etwa $^1/_2$ Stunde, in welcher man die Dotterhaut und den Dotter entfernt, mit anderen Fixierungsmitteln, welche man darauf einwirken läßt (z. B. Tellyesniczkysche oder Zenkersche Flüssigkeit) zu kombinieren.

667. Die Keime können gefärbt und geschnitten, resp. geschnitten, aufgeklebt und gefärbt werden.

668. Solche Keime, die man vorher gefärbt hat, kann man aber auch als Übersichtspräparate ganz einschließen, indem man die gefärbten Keimscheiben vorher entwässert und durch Xylol in Kanadabalsam überführt. Man unterlasse nie, der Dicke des Keimes entsprechend, dicke Schutzleisten anzuwenden; ohne diese Vorsicht werden die Keimscheiben stark platt gedrückt und die Organe verschoben.

669. Ganz instruktive Bilder erhält man, wenn man zu der Salpetersäure von der eben angegebenen Konzentration 5—10 ccm einer 1%igen wässerigen Silbernitratlösung auf 100 ccm hinzusetzt. Es erscheinen dabei sehr reine Zellgrenzen.

670. Die angegebenen Verfahren werden bei größeren Embryonen etwas modifiziert werden müssen, und ebenso bei ganz jungen Stadien.

Bei diesen letzteren ist die Anwendung des Sublimats nicht zu umgehen. Möglichst vom Eiweiß befreite Dotter kommen in eine Sublimat-Eisessiglösung auf ca. 2 Stunden, die Keimscheibe wird rasch mit dem darunter liegenden Dotter umschnitten und sehr vorsichtig mit einem Hornlöffel abgehoben. Die weitere Behandlung, siehe Sublimat-Eisessig. Stückfärbung mit Boraxkarmin ist in diesem Falle sehr zu empfehlen.

671. Auch andere Vogeleier sind bei uns leicht zu beschaffen, z. B. von Tauben, Sperlingen etc. Manche Vogeleier sind infolge der besonderen Zähigkeit des Eiweißes sehr schwer zu behandeln, z. B. Kiebitzeier, eine Eigenschaft, die sie mit Schildkröteneiern teilen.

672. Säugetiere. Die Embryonen, die man zum systematischen Studium am leichtesten bekommt, sind die des Kaninchens und des Meerschweinchens.

637. Die Tragzeit beträgt bei Maus und Meerschwein 3, Kaninchen und Ratte 5, Igel 7, Katze 7—8, Hund 8—9, Schwein 17—18, Schaf und Ziege 20—21, Reh 25, Kuh 40, Pferd 48 Wochen.

674. Am meisten Übung und Sorgfalt in der Fixierung erfordern die noch nicht angehefteten Eier. Die trächtigen Uteri werden unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit sorgfältig aufgeschnitten, mit Nadeln (man nehme eine mit Wachs ausgegossene Schale) aufgesteckt, und die Oberfläche des Epithels wird, falls die zu erwartenden Stadien jung, resp. die Eier klein sind, auf das sorg-

fältigste mit einer Lupe untersucht. Sind die Eier aufgefunden worden, so kann man die indifferente Flüssigkeit mit einer Pipette aufsaugen und mit einer fixierenden vertauschen, oder aber die Eichen selbst können mit einem kleinen Löffelchen aufgefangen und in die fixierende Flüssigkeit übertragen werden.

675. Als Fixierungsflüssigkeit benütze man bei jungen Stadien (Primitivstreifen, wenige Urwirbel) Pikrinschwefelsäure, oder Zenkersche Flüssigkeit, worauf die Eier, wie andere Objekte, weiterbehandelt werden. Da die Keimblase aber gewöhnlich schrumpft, so empfiehlt es sich, den Embryonalschild mit einer scharfen, spitzen Schere sofort nach der Trübung in der Fixierungsflüssigkeit zu umschneiden.

676. Auch schwache Osmiumsäure, etwa $^1/_3$% ige, oder Osmiumsäure-Gemische (siehe § 42) führen hier zum Ziel. Spätere Stadien, wenn der Embryo deutlich mit unbewaffnetem Auge sichtbar ist, die Kenntnis der anatomischen Verhältnisse der Lage und Eihäute des Embryos vorausgesetzt, sind leichter zu behandeln; man gewöhne sich nur, stets unter einer indifferenten oder fixierenden Flüssigkeit zu präparieren.

677. O. Schultze (97) findet es praktisch, die Eröffnung der Fruchtkapseln nicht sofort nach dem Tode vorzunehmen, sondern die durch Querschnitte des Uterus isolierten Kapseln zuerst für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in Flemmingsche Lösung, starke Mischung, einzulegen. Hierdurch wird die Fruchtkapsel schnell oberflächlich gehärtet und kollabiert nicht mehr beim Aufschneiden, so daß es leichter ist, die Embryonalanlage von der Schleimhaut zu lösen und in die Fixierungsflüssigkeit zu übertragen.

678. Kleinere Uteri trächtiger Tiere, Mäuse, Fledermäuse etc., können samt dem Inhalt am besten mit Carnoyscher Flüssigkeit (siehe § 65), aber auch Sublimat nach den bekannten Regeln fixiert werden. Die den Embryonen entsprechenden Anschwellungen des Uterus werden in toto durchtränkt und in Schnitte zerlegt, am zweckmäßigsten senkrecht auf die Längsachse des Uterus.

Da die Muscularis des Uterus sehr hart ist, so kann sie vor dem Schneiden nach Durchtränkung mit Paraffin mit einem scharfen Skalpell oder Rasiermesser entfernt werden.

679. Die Tube der Mäuse und namentlich der Fledermäuse ist sehr durchsichtig, und wenn man ein frisches

corpus luteum bemerkt und am Uterus nichts Verdächtiges findet, so unterlasse man nicht, die Tubenfältchen auf die angegebene Weise (siehe § 622) auszugleichen und in einer indifferenten Flüssigkeit mit einer mittleren Vergrößerung (etwa 70mal) sich genau anzusehen. Hat man das Glück gehabt, ein sehr junges Ei, etwa im Furchungsstadium, anzutreffen, so trachte man, dasselbe aus der Tube herauszubekommen, und zwar in der Weise, daß man die Tube in Stücke zerschneidet. Schon die Kontraktionen der Muskulatur pressen solche unverletzt heraus; oder man hilft sich damit, daß man solche Stückchen von einem Ende zum anderen mit dem Deckglase drückt, wobei die Eier ebenfalls frei werden. Solche Eier kann man nach derselben Methode, wie reife Follikeleier, behandeln und dauernd einschließen.

680. Säugetiereier in Furchung gewinnt man nach O. Schultze (97) am leichtesten aus dem Eileiter des Kaninchens im Laufe des zweiten Tages nach der Begattung, indem man den mit einem etwa 5 cm langen Stück des Uterus von letzterem abgetrennten und vorsichtig präparierten Eileiter vom Uterinende her mit 0,6%iger wässeriger Kochsalzlösung (viermal je 1 ccm in vier Schalen von nicht mehr als 4 cm Durchmesser) ausspritzt. Meist findet man beim Durchsuchen mit dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung in den ersten Schalen die Eier.

681. Um Befruchtungsstadien der Maus zu erhalten, schneidet Sobotta (95) die Tuben mit den frisch befruchteten Eiern nach Fixierung in der schwächeren Flemmingschen Lösung (24 Stunden oder etwas länger), Auswaschen in Wasser, 60—70%iger, am nächsten Tage 90%iger Alkohol, Schnittfärbung mit Eisenhämatoxylin.

Die Begattung findet beim Meerschwein unmittelbar post partum statt, bei Kaninchen und Maus bisweilen ebenfalls. Muß man aber die Tiere unmittelbar nach dem Wurf töten, so verliert man die Jungen. Sobotta teilt daher mit, daß bei der Maus 21 Tage post partum ein neuer Ovulationstermin liegt.

682. Sehr leicht ist das Behandeln der Meerschweinchen-eier vom 10.—15. Tage und darüber. Spannt man die Anschwellung des Uterus, die den Embryo enthält, mit Nadeln, schneidet die Muscularis an der dem Mesometrium entgegengesetzten Seite longitudinal an und durchtrennt alsdann vorsichtig die weiche Dezidualschicht unter der

fixierenden Flüssigkeit ebenfalls mit einem longitudinal verlaufenden Schnitt, so tritt der Zapfen mit dem Embryo unverletzt hervor und kann ohne weiteres fixiert werden. Die Eröffnung geschieht am zweckmäßigsten unter der fixierenden Flüssigkeit. Jüngere, kleinere Anschwellungen können samt den Eiern wie die der Mäuse behandelt werden.

683. Ohne besondere Schwierigkeiten kann man sich verschiedene Stadien der Schafembryonen aus den Schlachthäusern verschaffen, man verwerte sie aber unmittelbar nach dem Schlachten, denn schon nach wenigen Stunden verändern sie sich sehr stark, ja, jüngere Stadien zerfallen, resp. werden unbrauchbar.

684. Um freie kleine Eier, die im frischen Zustande sehr wenig resistent und vollkommen wasserklar sind, leichter aufzufinden, kann man in den Uterus vor dem Eröffnen z. B. Müllersche Flüssigkeit injizieren und erst, nachdem die Eier fixiert und undurchsichtig geworden sind, den Uterus unter derselben Flüssigkeit vorsichtig aufschneiden, aufstecken, die Eier aufsuchen und weiter behandeln (Hensen, 76).

685. Wie schon für Fische angegeben wurde, ist es von der größten Wichtigkeit, falls man nicht die geeignete Zeit dazu hat, Eier, Keimscheiben und Embryonen auch der übrigen Klassen sofort zu untersuchen, diese möglichst bald zu färben und geeignet orientiert mit Paraffin zu durchtränken; tut man es nicht, so läuft man Gefahr, daß die Objekte bis zur Unbrauchbarkeit brüchig werden und sich noch dazu nicht färben lassen.

686. Was die **Färbung embryologischen Materials** anbelangt, so empfehlen sich im allgemeinen Stückfärbungen mit Hämalaun und Karmin (Borax-, Alaun- und Parakarmin) oder nach § 185, 187, 198; weniger geeignet sind hierfür die Anilinfarben. Sehr gute Dienste leistet hier auch die Doppelfärbung nach Hämalaun mit Eosin oder Pikrinsäure, und nach den Karminen mit Pikrinsäure, auf Schnitte angewendet; bei Befruchtungsstadien versuche man die Doppelfärbung Karmin (im Stück) -Hämalaun (im Schnitt); bei mit Flemmingscher Lösung fixierten Objekten greife man zu Safranin im Schnitt. — Schon bei Anwendung der Karmine allein erhält man für nicht zu große Embryonen bei Stückfärbung instruktive Präparate.

Weitere Literatur: Ballovitz E. 03, Röthig, Schultze O. 97, Ziegler H. E.

17. Kapitel.

Haut, Haare, Nägel und sensible Nervenendigungen in der Haut.

687. Die Haut des Menschen (Affen) muß der der anderen Säugetiere für die Untersuchung vorgezogen werden. Da diese in der Regel erst nach vielen Stunden nach dem Tode zur Untersuchung kommt, so ist es ziemlich gleichwertig, wie sie fixiert wird, Müllersche Flüssigkeit, allmählich stärkerer Alkohol. Kann man frische menschliche Hautstücke, z. B. aus chirurgischen Kliniken von Operationen, erhalten, so fixiere man mit Sublimat, Flemmingscher Flüssigkeit oder Osmiumsäure.

Das Schneiden der Haut ist mit vielen Schwierigkeiten verknüpft, und man kann größere Stücke derselben nur in Zelloidin schneiden. — Mittelgroße und kleinere Stücke der Haut lassen sich auch in Paraffin schneiden; hierbei muß aber folgendes berücksichtigt werden: Die Haut muß möglichst rasch mit Paraffin durchtränkt werden, d. h., sie darf weder in Alkohol, noch in Chloroform etc. lange verweilen. Das zum Schneiden verwendete Paraffin muß von der weichsten, das Schneiden eben noch zulassenden Sorte sein (etwa von 50° Schmelzpunkt).

Haut, Haare (auch glatte Muskulatur) werden mit der Zeit in Alkohol steinhart; kann das Material nicht sofort verarbeitet werden, so empfiehlt es sich, dasselbe, in Paraffin eingebettet, aufzuheben, oder dasselbe in Paraffinum liquidum überzuführen (siehe § 68) und darin aufzubewahren.

688. Um von der Haut gute Paraffinschnitte zu erhalten, verfährt Barlow (95) folgendermaßen: Die in Osmiumsäure oder in Flemmingscher Lösung fixierten Stücke werden in 96%igem Spiritus aufgehoben, dann auf höchstens 24 Stunden in abs. Alkohol übertragen und durch Chloroform in Paraffin übergeführt. In Chloroform bleiben sie etwa 1 Stunde und ebensolange in Chloroform-Paraffin und auch 1 Stunde in reinem Paraffin. Die Paraffinsorte wird am zweckmäßigsten so zusammengesetzt, daß man $^2/_3$ Paraffin von 42—45° Schmelzpunkt und $^1/_3$ Paraffin von 45—50° Schmelzpunkt nimmt. Den Thermostat erwärme man auf 50° C.

Auf dem Objektträger dürfen die Schnitte nicht mit Eiweiß, sondern am besten mit Wasser festgeklebt werden, da beim Erwärmen oder nach einer Behandlung mit Säuren,

ja schon bei der Berührung mit Wasser, die von Paraffin befreiten angeklebten Schnitte sich werfen.

689. Verhornte Epidermiszellen können abgeschabt und nach § 260 untersucht werden.

690. An einer frischen Epidermis, die mit Überosmiumsäure fixiert und geschnitten wurde, differenziert sich das Stratum corneum in drei Schichten: in eine schwarze oberflächliche, eine farblose mittlere und eine schwarze tiefere.

691. Das Stratum lucidum an in Alkohol, Chromsäure (gut ausgewaschen) und an in Müllerscher Flüssigkeit fixierten Präparaten färbt sich mit Pikrokarmin gelblich.

692. Im Stratum granulosum lassen sich die **Keratohyalinkörner** durch Karmin (resp. Pikrokarmin), Safranin, Hämalaun färben. Von diesen sind zu unterscheiden die **Eleïdintropfen**, welche sich mit zahlreichen fettfärbenden Substanzen (Alkanna, Osmiumsäure, spritlöslichem Nigrosin), dagegen nicht mit Hämatoxylinen tingieren (vgl. Buzzi in Ledermann und Ratkowski, 94).

693. Einige Eigenschaften der Keratohyalinkörner entnehmen wir den Untersuchungen Waldeyers (82):

Sie lassen sich intensiv mit Karmin und Hämatoxylin imbibieren. In 1—5%iger Kalilauge quellen die Körner in der Kälte auf und werden dabei hell. In der Wärme lösen sie sich gleichzeitig mit den Zellen, worin sie eingeschlossen sind (Pferdehuf). Durch Ammoniak werden die Körner nicht verändert, und man kann dieses Reagens zum Nachweis des Keratohyalins mit Vorteil gebrauchen, da die meisten Gewebe in Ammoniak durchsichtig werden. Salpeter- und Salzsäure wirken ähnlich wie Alkalien. In Essigsäure und Eisessig bleiben die Keratohyalinkörner längere Zeit unverändert; da die Essigsäure die Epithelien rasch zum Quellen bringt und aufhellt, so kann man diese ähnlich wie Ammoniak vorteilhaft zum Nachweis des Keratohyalins benutzen. Das kohlensaure Natron 1%ig macht die größeren Schollen durchsichtiger und läßt sie aufquellen. Überhaupt sind die größeren Körner weniger widerstandsfähig wie die kleinen. In Alkohol, Chloroform und Äther bleiben die Körner unverändert. In Glyzerin-Pepsin-Extrakt und Trypsin lösen sie sich auf.

694. Die Beziehungen der Riffe der Zellen des Stratum Malpighii (spinosum) zueinander sind an dünnen Schnitten ohne weiteres wahrzunehmen (vgl. § 276 f.).

695. Um Zellverbindungen deutlicher darzustellen, färbt Schuberg die Schnitte mit Dahlia 0,3—1 g, Eisessig 12—20 ccm und Wasser 80—85 ccm einige Minuten lang; es wird mit Wasser gewaschen, in 10%iger Tanninlösung 5 Minuten fixiert, wieder gewaschen, mit 1%iger Brechweinsteinlösung 5 Minuten behandelt; Wasser, Alkohol, Xylol, Kanadabalsam.

696. Will man Zellen der Epidermis, namentlich des Stratum Malpighii, isolieren, so empfiehlt sich eine kurze Behandlung mit Trypsin. Frische Epidermis wird in einer wässerigen, in der Kälte gesättigten, filtrierten Lösung von Pancreatinum siccum auf 3—4 Stunden in einem auf 40° gewärmten Raum mazeriert Die so behandelten Stücke können lange Zeit in Glyzerin-Wasser-Alkohol zu gleichen Teilen aufbewahrt werden. Solchen Stücken entnommene Fetzen lassen sich zerzupfen und zeigen sehr instruktive Bilder der Riffzellen (Schiefferdecker, 86).

697. Um die Fibrillen in den Epithelzellen der Epidermis darzustellen, gebraucht man gewöhnlich die Methode von Herxheimer (modifizierte Fibrinmethode von Gram-Weigert). In Alkohol fixierte Stücke Epidermis werden dünn geschnitten und mit gesättigter Gentianaviolettlösung in Anilinwasser gefärbt, dann 1—2 Minuten mit Lugolscher Lösung (1 Jod, 2 Jodjodkalium auf 100 Wasser) behandelt und in Anilinxylol, 1 Anilinöl auf 2 Xylol entfärbt, wobei mit dem Mikroskope kontrolliert wird. Kromayer färbt ähnlich; er nimmt statt Gentiana-Methylviolett 6 B 5 Minuten und behandelt mit Lugolscher Lösung nur 1 Sekunde. Vorfärbung mit Karmin.

698. Cutis und die Papillen derselben werden an in Flemmingscher Lösung, Überosmiumsäure und Sublimat (nachfärben mit Boraxkarmin) fixierten Präparaten untersucht. (Die Darstellung der Nervenendapparate in den Papillen siehe § 707 ff.) An Schnitten sind die Schweißdrüsen (glatte Muskeln derselben!) gut erhalten (sehr groß z. B. in der Achselhöhle des Menschen). Das Bindegewebe der Cutis wird nach der im § 339 angegebenen Methode dargestellt.

699. Für die Darstellung **elastischer** Elemente der Cutis an Schnitten bediene man sich des Weigertschen Verfahrens (siehe § 335) und der Taenzer-Unnaschen Orzeïnmethode (siehe § 336), ferner erwähnen wir folgende Methoden:

700. Nach Stöhr und O. Schultze färbt Safranin nach der Methode von Flemming für Kernfärbung angewendet, auch elastische Fasern der Haut und der Gefäße rot. Mit Osmiumsäure allein behandelte Präparate zeigen ebenfalls spezifisch gefärbte elastische Fasern.

701. Nach Martinotti kommen frische Hautstücke von 2—3 ccm in eine 2%ige Lösung von Arsensäure auf 24 Stunden, dann auf 5—15 Minuten in Müllersche Flüssigkeit, dann in folgende Lösung: 2 g Silbernitrat werden in 3 ccm destillierten Wassers gelöst und 15—20 ccm reines Glyzerin zugefügt. Nach 24 Stunden wird mit destilliertem Wasser gewaschen und in Alkohol gebracht und in diesem geschnitten. Die Schnitte kommen ganz kurz in eine physiologische Kochsalzlösung, dann in absoluten Alkohol. Diese Methode ist auch für andere Organe anwendbar.

Um nach der Färbung mit der Martinottischen Methode die elastischen Fasern rein schwarz, resp. den Grund farblos zu erhalten, empfiehlt Ferria, die Schnitte eine kurze Zeit in Ätzkalilösung zu behandeln, resp. bis 24 Stunden in absolutem Alkohol liegen zu lassen.

702. Haare von Menschen und Tieren können unmittelbar unter das Mikroskop gebracht und unter Wasser untersucht werden. Die Nager haben eine sehr entwickelte Marksubstanz, und bei denselben ist auch das Oberhäutchen prägnant zu sehen. Für das Isolieren der Rinden- und Oberhäutchenzellen empfiehlt sich das Mazerieren in Kalilauge (von 33% unter Erwärmen, oder tagelang bei gewöhnlicher Temperatur) oder Natronlauge; mit Schwefelsäure konzentriert oder verdünnt, erzielt man ähnliche Resultate; auch Ammoniak (wochenlange Mazeration) führt zum selben Ziel. — Man erwärmt das Haar mit Schwefelsäure in einem Uhrschälchen, bis sich das Haar zu krümmen beginnt, und untersuche alsdann in Wasser: Rinden- und Markschicht sind zerfallen in ihre Bestandteile, das Haaroberhäutchen ebenfalls.

703. Für die Untersuchung der **Haare** und deren **Wurzelscheiden** verwende man mit Müllerscher Flüssigkeit oder mit Alkohol fixierte Objekte, welche beliebig gefärbt und so geschnitten werden, daß die Haare entweder genau quer oder längs (das Orientieren macht oft Schwierigkeiten) getroffen werden. Alles im § 687 Gesagte hat auch hier Gültigkeit.

704. Will man aber verschiedene Teile der Haare und der Haarwurzelscheiden in verschiedenen Farben zur Darstellung bringen, so verwende man Karmalaun-Indigokarmin

(siehe § 217), oder färbe nach Hämalaun mit Eosin, Orange- und anderen Teerfarbstoffen nach.

Jodmethylviolett färbt besonders leicht die innere Haarwurzelscheide (Unna).

»Es gibt wohl kaum ein Körpergebilde, welches sich besser für die reiche Skala der Teerfarben eignet, wie Haar und Haarbalg« (Fr. Merkel, Ergebnisse B. I., S. 226 [92]).

705. Das Material für Untersuchung der Nägel an Schnitten wird Föten und Kindern der ersten Lebensjahre entnommen. Die Elemente des Nagels isoliert man in konzentrierter Kalilauge, welche man bis zum Kochen erwärmt, dann abkühlt. Fetzen des weich gewordenen Nagels lassen sich auf dem Objektträger durch Andrücken des Deckglases isolieren.

706. Sensible Nervenendigungen der Haut. Wir beschränken uns auf die Darstellungsweise weniger sensibler Nervenendapparate: Meißnersche, Herbstsche, Grandrysche, Vater-Pacinische Körper, Fibrillen und Telodendrien der Epidermis und die Tastscheiben. Diese Endapparate haben wir aus der großen Zahl der bereits bekannten herausgegriffen, weil sie leicht zugänglich sind und ohne besondere Schwierigkeiten zur Ansicht gebracht werden können, und weil sie von allen Typen der sensiblen Nervenendigungen eine Vorstellung zu geben geeignet sind. Für das Studium der sensiblen Nervenendigungen berücksichtige man in erster Linie die Goldmethoden, die von Ehrlich und Golgi-Ramon y Cajal; speziell heben wir nachstehend folgendes hervor.

707. Die **Meifsnerschen Körperchen** sind an beliebig fixierten und tingierten Querschnitten durch die Papillen der Haut an denjenigen Stellen, wo sie zahlreich vorkommen, z. B. an der Volarfläche der Endglieder der Finger, ohne weiteres auf jedem Schnitt als quergestrichelte ovale Körper in denselben zu erkennen.

708. Eine alte Methode besteht in folgendem: Die Haut wird von der Endphalanx der Finger oder Zehe abpräpariert und einige (bis 10) Minuten gekocht. Das Wasser samt dem Hautstück läßt man kalt werden, dann nimmt man es heraus. Es läßt sich nun die Epidermis abziehen; auf dem Cutisstück sieht man mit der Lupe intakte Papillen, die man mit einem Rasiermesser abtragen kann. Diese Papillen werden auf einem Objektträger deponiert, mit einer etwa 3%igen wässerigen Eisessiglösung behandelt und mit einem Deckglase bedeckt.

Nach einer Stunde bereits sieht man in vielen Papillen Meißnersche Tastkörperchen als ovale quergestreifte Körper und zuweilen sogar den zutretenden Nerv.

709. Will man die Ausdehnung der Markscheide der zutretenden Nervenfaser kennen lernen, so behandle man ein kleines Hautstück mit Osmiumsäure (siehe § 38) und schneide senkrecht auf die Oberfläche der Haut, um die Papillen der Länge nach zu treffen.

710. Um die Beziehungen der Nervenfasern zum Meißnerschen Körperchen zu eruieren, vergolde man die Hautstücke nach der im § 443 erwähnten Löwitschen Methode.

711. Die **Herbstschen** und die **Grandryschen Körperchen** kommen in der Wachshaut des Entenschnabels und in den Gaumenleisten desselben Vogels vor. Sie lassen sich als solche bei beliebiger Fixierung und Färbung erkennen.

Eine wahre Fundgrube der Herbstschen Körperchen ist die Zunge von Spechten (Dr. Ludwig Ferdinand, **Prinz von Bayern, 84**).

712. An mit Osmiumsäure behandelten Stücken sieht man den Nerv in Beziehung zu den Körperchen treten, soweit er markhaltig ist.

713. Will man die Nerven weiter verfolgen, so greife man zu einer von Carrière (82) empfohlenen Böhmschen Methode: Stücke einer frischen, mit dem Rasiermesser abgetragenen Wachshaut (mit Cutis bis zum Periost) des Entenschnabels kommen in 50%ige Ameisensäure auf 20 Minuten; sie werden mit destilliertem Wasser flüchtig gewaschen und kommen auf ebensolange Zeit (20 Minuten) in eine geringe Menge einer 1%igen Goldchloridlösung. Die Stücke werden abermals einige Sekunden in destilliertem Wasser gewaschen, um in eine große Menge (etwa 300 ccm) Prichardscher Lösung übertragen zu werden; diese besteht aus Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, destilliertem Wasser 98); in dieser verbleiben die Stücke im Dunkeln 24—36 Stunden, werden mit Wasser abgespült, mit Alkohol gehärtet und geschnitten.

714. Die größten und bekanntesten sensiblen Endapparate sind die **Vater-Pacinischen** Körperchen. Die Verbreitung derselben ist eine sehr große, wir erwähnen das Mesenterium der Katze als eine Fundgrube für solche; sie sind da mit bloßem Auge leicht wahrzunehmen.

715. Diese Körperchen lassen schon im frischen Zustande unter dem Mikroskop vieles erkennen. Man untersuche in physiologischer Kochsalzlösung.

716. Will man sich überzeugen, daß die Lamellen aus Endothelzellen zusammengesetzt sind, so versilbere man die Körperchen nach § 270.

717. Nerven der Epidermis. Nach der Goldmethode (siehe § 443) oder nach der folgenden:

718. Stückchen der Haut werden mit einer $^1/_2$ %igen Arsensäure angesäuert, sie kommen sodann $^1/_2$ Stunde in eine 1—2 %ige Goldchloridlösung und werden schließlich in eine 1 %ige Arsensäure übertragen, wo die Reduktion erfolgt (Goldscheider, 86). (Objekt Tastballen.)

719. Tastscheiben vom Rüssel des Schweins. Methode von Löwit (siehe § 443), hierfür empfohlen von Bonnet (78).

Bonnet verfährt nach einer modifizierten Weigertschen Methode. Die Hautstücke werden in $^1/_3$ %iger Chromsäure fixiert, geschnitten, mit Hämatoxylin überfärbt und mit alkoholischer Lösung von rotem Blutlaugensalz bis zur scharfen Differenzierung behandelt.

720. Haut etc. jüngerer Tiere behandle man auch nach Ramon y Cajal (siehe § 480 und 490).

Literatur zu Kapitel 17: Ledermann und Ratkowski (94), Joseph und Loewenbach (1900).

18. Kapitel.

Auge.

721. Der von Muskeln und lockerem Bindegewebe bis auf die Sklera befreite ganz frische **Augapfel** wird mit Müllerscher Flüssigkeit (siehe § 30) fixiert. Ein Augapfel von der Größe des menschlichen darf mindestens 3 Wochen darin belassen werden. Der Bulbus wird dann sorgfältig in fließendem Wasser ausgewaschen und in Spiritus von allmählich steigender Konzentration übergeführt. Ist ein Auge sehr klein, so kann man es ganz im Stück färben und schneiden.

722. Es ist von einer Paraffindurchtränkung hierbei abzuraten, da Sklera, und namentlich die Linse, in Paraffin viel zu hart werden. Man durchtränke daher mit Zelloidin. Größere fixierte Augen werden unter Spiritus mit einer

scharfen Schere durch einen äquatorialen Schnitt eröffnet, der Glaskörper entfernt und Stücke aus verschiedenen Regionen, die alle Augenhäute enthalten, herausgeschnitten und weiter bearbeitet.

723. Flemmingsche, Merkelsche, Zenkersche Flüssigkeit, Salpetersäure (siehe § 58) Sublimat-Salpetersäure (gesättigte Sublimatlösung 100, Salpetersäure 5) können ebenfalls als Fixierungsmittel für das ganze Auge empfohlen werden.

Merkelsche (70) Flüssigkeit: Platinchlorid 1 : Wasser 400, Chromsäure 1 : Wasser 400 zu gleichen Teilen. Die Bulbi werden halbiert und 3—4 Tage eingelegt.

724. Schnitte, welche durch die ganze Dicke des Auges geführt sind, lassen eine allgemeine Orientierung über die Topographie der Augenhäute und deren Schichtung zu, sind aber nicht geeignet für das Studium feinerer Details, dafür sind speziellere Wege einzuschlagen.

725. **Corneae** kleinerer Tiere, frisch ausgeschnitten, können in indifferenten Flüssigkeiten oder in der Glaskörperflüssigkeit, die man durch Einstich einer fein ausgezogenen Kapillarröhre in den Augapfel gewinnt, vor Verdunstung geschützt, untersucht werden.

726. Das **vordere Epithel** wird an Schnitten, einer mit Müllerscher oder Flemmingscher Lösung behandelten Hornhaut entnommen, studiert. Als Mazerationsflüssigkeit verwende man $^1/_3$ Alkohol.

727. Das **Descemetsche Endothel** kann durch **Versilberung** und nachträgliche Färbung zur Darstellung gebracht werden (siehe § 270).

728. Zur Untersuchung des Endothels der Cornea injiziert Nuel sofort, nachdem das Tier getötet ist (Kaninchen oder Vogel), in die vordere Augenkammer 1—2%ige Ameisensäure, nachdem vorher Humor aqueus abgeflossen ist. Dann wird das Auge enukleirt und 3—5 Minuten in 1%ige Osmiumsäure gelegt. Dann kann man die Cornea ausschneiden und sofort oder nach Karminfärbung untersuchen, Nuel et Cornil (90).

729. Die Grundsubstanz der Hornhaut läßt sich nach Mazeration in Kalkwasser z. B. (auch übermangansaures Kalium) in Lamellen und Fibrillen zerlegen (Rollett, 72).

730. Die **Hornhautkörperchen** können in vielfacher Weise untersucht werden. Es wird mit einem Lapisstift die vom vorderen Epithel befreite Hornhaut am lebenden Tiere (Frosch) geätzt. Schneidet man alsdann die Cornea aus

und überträgt dieselbe in Wasser, so erscheinen alsbald die Hornhautkörperchen mit Ausläufern hell auf dunklem Grunde: negative Versilberung (Ranvier, 81).

731. Die dickeren Hornhäute größerer Tiere werden ebenso behandelt, müssen jedoch an Flachschnitten, die man mit der Hand anfertigt, studiert werden. Läßt man solche mit Höllenstein behandelte Hornhäute ein paar Tage im Wasser liegen, so entfärbt sich die Grundsubstanz, und die Hornhautkörperchen werden dunkel: positive Bilder (Ranvier, 81).

732. Leber (68) behandelt die Cornea eines Frosches kurze Zeit mit einer $^1/_2$—1%igen Lösung eines Eisenoxydsalzes; die Hornhaut wird auf einen Augenblick in destilliertes Wasser eingetaucht und kommt sofort in eine 1%ige Lösung von Ferridcyankalium. Nach einigen Minuten sind die Hornhautkörperchen, zuweilen in der ganzen Dicke der Cornea, mit ihren Ausläufern gefärbt.

733. Die Hornhautkörperchen können aber auch durch Vergoldung dargestellt werden, wobei die **Nerven der Cornea** ebenfalls gefärbt werden.

Speziell für die Hornhaut empfiehlt Ranvier (89) Goldchloridkalium in einer 1%igen Lösung.

Eine Froschhornhaut kommt auf fünf Minuten in Zitronensaft (siehe § 445), dann auf $^1/_4$ Stunde in die eben erwähnte Goldlösung; reduziert wird im Lichte in schwach mit Essigsäure (2 Tropfen auf 30 ccm) angesäuertem Wasser 1—2 Tage.

734. Hornhautkörperchen mit Ausläufern (deren Ausgüsse) können auch nach der Altmannschen Methode (siehe § 517) dargestellt werden.

Siehe auch Ranvier (81).

735. Die **Sklera** wird nach den Methoden, die für Bindegewebe (§ 325 ff.) angegeben worden sind, behandelt.

736. Die **Vasculosa** und **Iris** werden am bequemsten an albinotischen Kaninchen studiert. Man unterlasse nicht, die Iris an sehr gut orientierten Objekten flach zu schneiden.

737. Die Lymphgefäße der Chorioidea können mit der Altmannschen Methode zur Anschauung gebracht werden (siehe § 516 und bei Altmann [79], Seite 500 ff.).

738. An fixierten pigmentierten Augen kann man auf Kosten der guten Konservierung das Pigment mit Wasserstoffhyperoxyd entfernen.

Mit diesem Mittel kann man nach Unna Vielfaches erzielen. Es bleicht alle Pigmente, entfärbt Chromsäure und Osmiumsäurepräparate, sowie auch mit Hämatoxylin überfärbte; gegen Gold- und Silberniederschläge ist es unwirksam, reduziert aber frische Goldchloridpräparate augenblicklich und vollständig; schwache und starke Lösungen wirken, abgesehen vom Zeitunterschied, gleich.

Zu ähnlichen Resultaten ist Solger (83) gekommen. (Duval [78] hat im Jahre 1878 eine ähnliche Bleichmethode als eine alte, von Pouchet angegebene, erwähnt.)

739. Man kann das Bleichen der Pigmente (und zu dunkel gewordener Osmiumsäurepräparate mit naszierendem Chlor (P. Mayer, 81) bewerkstelligen. Die zu bleichenden Objekte kommen in ein mit Alkohol gefülltes Gefäß, auf dessen Boden Kristalle von Kalium chloricum deponiert werden. Es wird nun Salzsäure (bis 1%) hinzugefügt und das Gefäß verschlossen.

740. Die **Linse** erwachsener Tiere läßt sich, es mag die Vorbehandlung sein, welche sie wolle, schlecht schneiden, eher in Zelloidin, in Paraffin nur dann, wenn man nach jedem Schnitt die Schnittfläche des Paraffinblocks mit heißem Paraffin vermittelst eines weichen Pinsels rasch bestreicht. Diese Methode ist für harte und brüchige Objekte überhaupt zu empfehlen. Die Linsen älterer Tiere müssen vor dem Schneiden ausgebohrt, d. h. es muß der sog. Kern entfernt werden. (C. Rabl, 94 und 00.)

741. An mit starker Salpetersäure (bis 30%) mazerierten Linsen lassen sich leicht die Linsenfasern isolieren.

742. Isolation der Linsenfasern mit 1/3 Alkohol. Frische Linsen werden 2 Stunden eingelegt, dann wird die Linsenkapsel durch Anstechen eröffnet, es verbleiben die Linsen noch 24 Stunden in 1/3 Alkohol; es wird nun auf dem Objektträger in Glyzerin gezupft und nach Pikrokarminzusatz eingelegt und umrandet. Man studiere die verschiedenen Formen der Linsenfasern, vor allem beim Fisch und Säugetier.

743. **Retinae** größerer Tiere sind an in toto behandelten Augen in der Regel mangelhaft fixiert, weil sie sich verändern, ehe die fixierende Flüssigkeit durch die Sklera gedrungen ist. In solchen Fällen muß die Retina nebst Chorioidea unter Kochsalz rasch nach den bekannten Regeln isoliert und dann fixiert werden, oder das Auge wird durch einen Schnitt (äquatorialen) halbiert und nach Entfernung des Glaskörpers mit fixierender Flüssigkeit behandelt.

744. Als solche sind zu empfehlen: Müllersche Flüssigkeit (1—2 Wochen lang), Salpetersäure von 3% (24 Stunden auswaschen und dann 70%iger Spiritus), Flemmingsche Flüssigkeit und vor allem die Osmiumsäure.

745. Diese wird nach Ranvier (89) folgendermaßen angewandt: Augen kleinerer Tiere: Maus, Triton, Frosch etc. werden herausgenommen, vorsichtig (ohne auf den Bulbus zu drücken) mit Schere von Muskeln etc. befreit und mit Osmiumsäuredämpfen $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde geräuchert (siehe § 39). (Größere Bulbi müssen vor der Räucherung eröffnet und der Glaskörper und Retina von innen geräuchert werden.) Nach der Räucherung ist die Retina genügend fixiert, und man kann das Auge unter $^1/_3$ Alkohol durch einen äquatorialen Schnitt eröffnen und in diesem einige (3—4) Stunden belassen. Die hintere Augenhälfte (mit dem Nerven) wird mit Pikrokarmin einige Stunden gefärbt und aus diesem in 1%ige Osmiumsäurelösung auf 12 Stunden übertragen, worin die definitive Fixierung der Elemente erfolgt. Es wird mit Wasser gewaschen, mit Alkohol behandelt und in Paraffin geschnitten.

746. Ist die Sklera zu hart, so kann man sie mit scharfem Messer an mit Paraffin durchtränkten Stücken nach Bedarf entfernen.

747. Beim Studium der Retina begnüge man sich nie mit Querschnitten, sondern fertige auch gut orientierte Flachschnitte an. Mit Recht weist W. Krause auf diesen Umstand hin und bemerkt, daß man, ohne Flachschnitte untersucht zu haben, schwerlich zu einer richtigen Vorstellung über den Bau der Zwischenkörnerschicht z. B. gelangen kann.

748. Als weiteres Fixierungsmittel, das sehr gut die Außenglieder konserviert, aber auch bei der Isolation der Stützfasern Gutes leistet, ist die 10%ige Chloralhydratlösung anzuführen (Krause, 84).

749. Die Retinae lassen sich im allgemeinen gut färben, und die Mehrfachfärbungen liefern (außer nach Osmiumsäurebehandlung) farbenreiche Bilder, welche für Demonstrationszwecke z. B. unter Umständen Nutzen bringen.

750. Dogiel setzt seine Methode der Retinafärbung näher auseinander: »Ein eben enukleirtes Auge eines Warmblüters wird durchschnitten, die Retina in Fetzen mit Pigmentschicht und Glaskörperresten vorsichtig aufgehoben, mit der äußeren Fläche nach oben, auf breite Objektträger

gebracht und deren Oberfläche oder aber der Objektträger am Rande des Präparats mit einigen Tropfen einer 1/6 bis 1/8 %igen Methylenblaulösung benetzt. Nach 5 Minuten wird jedes Stück auf ein reines Objektglas, doch diesesmal mit der Nervenfaserschicht nach oben, übertragen, der Glaskörper teilweise vorsichtig mit einer Schere entfernt und dasselbe, oder der Objektträger am Rande des Präparats mit 2—3 Tropfen einer Methylenblaulösung angefeuchtet. Die Objektgläser werden alsdann in einer flachen Schale (siehe oben) angeordnet und in derselben in einem Thermostaten aufgestellt; von Zeit zu Zeit muß die Färbung der Nervenelemente unter dem Mikroskop kontrolliert werden; nach 30—40 Minuten hat die Färbung gewöhnlich den Höhepunkt erreicht, worauf die Präparate entweder direkt auf dem Objektglase fixiert oder aber von letzterem abgehoben und in die Fixierungsflüssigkeit gebracht werden. Bei kleinen Warmblütern nimmt man am besten die ganze Netzhaut auf einmal heraus, ebenso wie bei kleinen Kaltblütern (Frosch), bei denen jedoch die Färbung bei Zimmertemperatur vor sich geht.«

751. Wenn man den Glaskörper entfernt und die Innenfläche der Retina versilbert, so erhält man deutliche Silberbilder von den Grenzen der Füßchen der Müllerschen Fasern.

Für die Retina empfiehlt Ramon y Cajal (94a; vgl. auch § 490) folgendes, nach Golgi modifiziertes Verfahren:

1. Eintauchen der hinteren Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in

Kaliumbichromat 3%—20 ccm
Osmiumsäure 1%—5—6 ccm

auf 1—2 Tage.

2. Man trocknet dann die Stücke vorsichtig mit Fließpapier und überträgt sie in 3/4% Höllensteinlösung auf 24 Stunden.

3. Ohne vorheriges Abwaschen kommen die Stücke in die erste Osmiumbichromatlösung. Letztere muß etwas weniger Osmiumsäure enthalten (auf 20 ccm Kaliumbichromat von 3% etwa nur 2—3 ccm der 1%igen Osmiumsäure). 24—36 Stunden.

4. Abermaliges Einlegen in 3/4% Höllensteinlösung auf mindestens einen Tag.

Um Niederschläge auf ein Minimum zu reduzieren, empfiehlt es sich, die abgelösten Retinae vor der Behandlung aufzurollen. Um das Wiederabrollen zu verhüten,

übergießt man die Rolle mit Kollodium oder dünnem Zelloidin.

752. Galle wirkt eigentümlich lösend auf die Außenglieder der Stäbchen und Zapfen (Kühne, Dreser, 86).

Weitere Literatur zu Kapitel 18: Greef (98), Seligmann (99).

19. Kapitel.

Ohr.

753. Bei der Behandlung der schallperzipierenden Organe gebricht es beim Anfänger in der Regel an der genauen Kenntnis der Lage derselben innerhalb des Felsenbeins bei den verschiedenen Tieren. Man fange deshalb lieber mit Objekten an, die, ohne genauer makroskopisch zergliedert zu werden, eine Behandlung mit dem (von Weichteilen befreiten) Felsenbeine zulassen.

Die Cochlea erzeugt bei Nagern scharf gezeichnete Vorsprünge im Cavum Tympani, und es ist die Möglichkeit des genauen Orientierens vor dem Schneiden dadurch gegeben. Bei größeren Nagern kann man vor oder nach dem Fixieren die Schnecke abmeißeln, resp. abzwicken, und erst dann weiter behandeln.

754. Solche Felsenbeine werden in Müllerscher Flüssigkeit oder in Flemmingscher Lösung fixiert und dann eventuell entkalkt.

755. Als Entkalkungsflüssigkeit ist die schweflige Säure, für sehr kleine Schnecken (wie die des Meerschweinchens) auch eine 3 %ige Salpetersäure und gesättigte Pikrinsäurelösung anderen vorzuziehen. Schnecken größerer Tiere müssen unter der fixierenden Flüssigkeit eröffnet, fixiert, und dann entkalkt werden. Geschnitten wird in Zelloidin oder Photoxylin. (Letzteres, da durchsichtig, erleichtert die Orientierung.)

756. Die Schnecke wird, nach Retzius (84) eröffnet, eine halbe Stunde mit einer $^1/_2$ %igen Überosmiumsäurelösung fixiert, darauf ebensolange Zeit mit $^1/_2$ %iger Goldchloridlösung behandelt. Es wird nicht weiter entkalkt, das Cortische Organ stückweise herauspräpariert und untersucht oder nach Entfernung von Knochen geschnitten.

757. Nach Ranvier (89) eröffnet man die Schnecke mit einem Skalpell unter einem Osmiumsäuregemisch (2 % gelöst in physiologischer Kochsalzlösung). Man lasse

alsdann dasselbe zwölf Stunden einwirken und entkalke mit einer 2%igen, oft zu wechselnden Chromsäure. Die Entkalkung für Meerschweinchen dauert eine ganze Woche.

758. Das Cortische Organ kann nach § 763 behandelt werden (1/8 Alkohol, dann Überosmiumsäure, resp. deren Dämpfe), (siehe § 39).

759. Labyrinth des erwachsenen Menschen. Wir führen hier zwei Beispiele an, die sehr befriedigende Resultate, auch was die Erhaltung des Sinnesepithels betrifft, ergaben (A. Scheibe).

Die Felsenbeinpyramide wird nach den üblichen Regeln abgetrennt, die Schnecke und der obere Bogengang eröffnet. Man lasse die Müllersche Flüssigkeit 3 Wochen lang einwirken, wechsle diese in der ersten Woche alle Tage einmal, dann alle zwei Tage. Es wird alsdann 24 Stunden mit fließendem Wasser gewaschen, in 80%igen Alkohol auf 14 Tage, in 96%igen auf ein paar Tage und in die Entkalkungsflüssigkeit — 5%ige Salpetersäure, welche täglich zu wechseln ist (§ 369) — auf 10—15 Tage übertragen. Es wird nun 2 Tage lang in fließendem Wasserleitungswasser gewaschen und in 80%igen Spiritus auf 24 Stunden, dann in 96%igen übertragen; im Spiritus letzterer Konzentration verbleiben die Stücke 6—8 Tage und werden mit Zelloidin durchtränkt (siehe § 87 f.) und geschnitten. Auch folgende Methode hat befriedigende Resultate ergeben: Die abgetrennte Pyramide mit eröffneter Schnecke und eröffnetem oberen Bogengang wird 2 Tage lang mit Müllerscher Flüssigkeit bei Zimmertemperatur behandelt, kommt alsdann in derselben oft zu wechselnden Flüssigkeit auf 3 Wochen in einen Thermostaten (33° C), wird 48 Stunden in fließendem Wasser gewaschen, wird in 80%igen Spiritus auf 14 Tage, aus diesem in 96%igen auf 8 Tage übertragen, entkalkt usw. und dann mit Zelloidin durchtränkt und geschnitten.

Weitere Literatur für Kapitel 19: Politzer A. (89).

20. Kapitel.

Nase.

760. Um Orientierungspräparate von der **Nasenschleimhaut** zu erlangen, muß man von z. B. in Flemmingscher Lösung fixierten, natürlich der regio respiratoria sowohl, als der regio olfactoria entnommenen Stücken Querschnitte

anfertigen. Es empfiehlt sich, Schleimhautstücke der letztgenannten Region in reiner Osmiumsäure (1 % siehe § 38) zu fixieren, da die Olfactoriusfasern und Fibrillen, im Gegensatz zu den Remakschen Fasern (siehe § 438), sich mit Osmiumsäure bräunen.

761. Epithelien der regio respiratoria werden mit $^1/_3$ Alkohol (siehe § 262) isoliert.

762. Epithelien der regio olfactoria lassen sich ebenfalls in $^1/_3$ Alkohol mazerieren, die isolierten Sinneszellen aber, die sehr lang sind, verkrümmen sich und werden sonst vielfach verändert.

763. Um diesen Mißständen aus dem Wege zu gehen, empfiehlt Ranvier ein ebenso einfaches als vorzügliches Mittel. Epithelfetzen werden 1—2 Stunden mit $^1/_3$ Alkohol mazeriert, dann fünf Minuten bis eine Viertelstunde mit Osmiumsäure behandelt. Jetzt kann im Wasser gezupft werden, die Zellen behalten ihre Form und können in Glyzerin eingeschlossen werden.

764. Die Methode von Golgi, auf die Schleimhaut der Nase jugendlicher Tiere und der Föten angewendet, hat hier zur Erkenntnis der bedeutungsvollen Tatsache geführt, daß die Riechzellen der regio olfactoria peripher gelegene Ganglienzellen sind (Ramon y Cajal, 94b).

Literatur-Verzeichnis.*)

Im Literaturverzeichnis steht hinter dem Namen der Autoren eine fettgedruckte Zahl, welche die Jahreszahl, in der die betreffende Arbeit erschienen ist, bezeichnet. Die Zahlen sind abgekürzt und beziehen sich meistens auf die Jahre des vorigen Jahrhunderts. **00—04** bedeutet **1900 -1904.**

Abbe, E., **78.** Über Blutkörper-Zählung. Sitzungsber. d. Jen. Ges. f. Med. u. Naturw.

Afanassiew, M., **84.** Über den dritten Formbestandteil des Blutes im normalen und pathologischen Zustand etc. Arb. Med.-Klin. Inst. Univers. München. Bd. 1, 2. Heft, p. 556—592, T. 15

Altmann, R., **79.** Über die Verwertbarkeit der Korrosion in der mikroskopischen Anatomie. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 471—507, T. 21—23.

—, **92.** Ein Beitrag zur Granulalehre. Verh. Anat. Ges. 6. Vers. p. 220—223.

—, **94.**. Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. p. 1—160, 9 Fig. und 35 T. 2. Aufl. Leipzig.

Ambronn, H., **92.** Anleitung zur Benutzung des Polarisations-Mikroskops bei histologischen Untersuchungen. Leipzig.

Apáthy, S., **87.** Methode für Verfertigung längerer Schnittserien mit Zelloidin. Mitteilg. aus d. Zool. Station zu Neapel. 7. Bd.

—, **88.** Nachträge zur Zelloidintechnik. Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. Bd. 5.

—, **89.** Mikrotechnische Mitteilungen. Zeitschrift f. wiss. Mikrosk. 6. Bd.

—, **96** und **00.** Die Mikrotechnik der tierischen Morphologie, 1. Abteilung. Braunschweig. 2. Abteilung. Leipzig.

*) Enthält die im Texte zitierten Arbeiten; bei mehreren Arbeiten ein und desselben Autors entscheidet die beigesetzte Jahreszahl, eventuell bei mehreren Arbeiten aus einem Jahr a, b etc. — Wir haben weniger Wert darauf gelegt, diejenigen Arbeiten zu zitieren, durch welche neue Methoden zuerst eingeführt wurden, vielmehr beabsichtigen wir, ein Nachschlagen zu weiterer Information zu ermöglichen.

Argutinsky, P., **1900.** Eine einfache und zuverlässige Methode, Zelloidinserien mit Wasser und Eiweiß aufzukleben. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 55, p. 415—419.

Arnold, J., **96.** Zur Technik der Blutuntersuchung. Zentralbl. f. Allg. Path. u. Pathol. Anat. Bd. 7.

Arnstein, C., **87.** Die Methylenblaufärbung als histologische Methode. Anat. Anz. Bd. 2.

Azoulay, L., **94.** Coloration de la myéline des tissus nerveux et de la graisse par l'acide osmique et le tanin ou ses analogues. Anat. Anz. Bd. 10, p. 25—28.

Ballowitz, E., **88.** Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 32.

—, **03.** Artikel »Embryologische Technik« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik.

Barfurth, D., **91.** Über Zellbrücken glatter Muskelfasern. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

—, **93.** Die experimentelle Untersuchung über die Regeneration der Keimblätter bei den Amphibien. Anatomische Hefte 1. Abt., H. 9. (3. Bd., H. 2.)

Barlow, R., **95.** Mitteilungen über Reduktion der Überosmiumsäure durch das Pigment der menschlichen Haut. D II Heft 5. Bibliotheca medica. Abt. D II.

Bartel, J., **04.** Zur Technik der Gliafärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie Bd. 21. — Anat. Anz. Ergänzungsheft zu Bd. 19.

Bayerischer Königskalender, 83. Gebr. Reichel in Augsburg,

Behrens, F., **98.** Die Herstellung gefärbter Leberpräparate. Zeitschrift f. angewandte Mikroskopie. 3. Bd., p. 76—77.

—, W., **Kossel**, A., **Schiefferdecker**, P., **89.** Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig. H. Bruhn.

Benda, C., **87a.** Ein interessantes Strukturverhältnis der Mäuseniere. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **87b.** Untersuchungen über den Bau des funktionierenden Samenkanälchens einiger Säugetiere und Folgerungen für die Spermatogenese dieser Wirbeltierklasse. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30.

—, **01.** Die Mitochondriafärbung und andere Methoden zur Untersuchung der Zellsubstanzen. Verhandl. d. Anat. Gesellsch.

Beneke, 93. Über eine Modifikation der Weigertschen Fibrinfärbung. Ergänzungsh. z. 8. Jahrg. d. Anat. Anz.

Berkley, H. J., **93.** Studies in the Histology of the Liver. Anat. Anz., 8. Jahrg., p. 769—792. 22 Fig.

Bethe, A., **95.** Angaben über ein neues Verfahren der Methylenblaufixation. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 44.

—, **96.** Eine neue Methode der Methylenblaufixation. Anat. Anz. Bd. 12, p. 438—446.

—, **00.** Das Molybdänverfahren zur Darstellung der Neurofibrillen und Golginetze im Zentralnervensystem. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 17.

Biedermann, W., **98.** Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 72, p. 105—162.

Blochmann, F., **84.** Über Einbettungsmethoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1.

—, **89.** Eine einfache Methode zur Entfernung der Gallerte und Eischale bei Froscheiern. Zool. Anz.

Blum, F., **93.** Der Formaldehyd als Härtungsmittel. (Vorl. Mitt.) Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. X.

—, **96.** Über Wesen und Wert der Formalhärtung. Anat. Anz. Bd. 11.

Böhm, A. A., **91.** Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. und Physiol. zu München.

Böhm, A. A., und **v. Davidoff**, M., **95** und **03.** Lehrbuch der Histologie des Menschen einschließlich der mikroskopischen Technik. 246 Abbild. XV, 404 pp. Wiesbaden 1895; 3. Aufl. 278 Abbild. XIV, 417 pp. Wiesbaden 1903.

Böhmer, F., **65.** Zur pathologischen Anatomie der Meningitis cerebromedullaris epidemica. Ärztl. Intelligenzbl. f. Bayern. 12. Jahrgg.

Bonnet, R., **78.** Studien über die Innervation der Haarbälge der Haustiere. Morph. Jahrb. Bd. 4, p. 329—398, T. 17—19.

Born, G., **83.** Die Plattenmodelliermethode. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22.

—, **88.** Noch einmal die Plattenmodelliermethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93.** Ein neuer Schnittstrecker. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

Born, G. und **Peter**, K., **98.** Zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XV.

Boveri, Th., **87.** Zellen-Studien. Heft 1, Jena.

Braus, H., **96.** Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. Semons Zool. Forschungsreisen. Bd. 2.

Bremer, L., **82.** Über die Endigungen der markhaltigen und marklosen Nerven im quergestreiften Muskel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 21.

Bütschli, O., **92.** Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. 234 p., 23 Fig., 6 Taf. Atlas von 19 Mikrophotographien. Leipzig.

Cajal Ramon y, S., **94a.** Die Retina der Wirbeltiere. Untersuchungen mit der Golgi-Cajalschen Chromsilbermethode und der Ehrlichschen Methylenblaufärbung. Übersetzt von R. Greeff. Wiesbaden.

—, **94b.** Les nouvelles idées sur la structure du système nerveux chez l'homme et chez les vertébrés. Paris.

— **03.** Méthode nouvelle pour la coloration des neurofibrilles. Comptes rend. de la Soc. Biol. Paris. T. 55.

—, **04.** Über einige Methoden der Silberimprägnierung zur Untersuchung der Neurofibrillen, der Achsenzylinder und der Endverzweigungen. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie Bd. 20.

Cajal Ramon y, S., **04.** Trois modifications des usages différents de ma méthode de coloration des neurofibrilles par l'argent réduit. Comptes rend. de la Soc. Biol. Paris. T. 56.

Carrière, J., **82.** Kurze Mitteilungen zur Kenntnis der Herbstschen und Grandryschen Körperchen in dem Schnabel der Ente. Arch. Mikr. Anatomie. 21. Bd., p. 146—164, T. 6.

Chilessotti, Ermaus, **02.** Eine Karminfärbung der Achsenzylinder, welche bei jeder Behandlungsmethode gelingt. (Urankarminfärbung nach Schmaus modifiziert.) Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. 13.

Chrzonszczewsky, N., **64.** Zur Anatomie der Niere. Virchows Arch. Bd. 31.

—, **66.** Zur Anat. u. Physiol. d. Leber. Virchows Arch. Bd. 35.

Cohnheim, 67a. Über die Endigungen der sensiblen Nerven in der Hornhaut. Virchows Arch. Bd. 34, p. 606—622, T. 14.

—, J., **67b.** Über Entzündung und Eiterung. Virchows Arch. Bd. 40, p. 1—79.

Cohnstein, W., **96.** Physiol. Permeabilität tierischer Membranen. Aus: Naturw. Rundschau. Jahrg. XI, Nr. 42. 17./10. 1896.

Corning, H. K., **1900.** Über die Methode von P. Kronthal zur Färbung des Nervensystems. Anat. Anz. 17. Bd., p. 108—111.

Cox, W. H., **90.** Impraegnatie van het centrale zenuwstelsel met Kwikzouten. Nederlandsch Tijdschrift for Geneeskunde. D. 12.

—, **91.** Imprägnation des zentralen Nervensystems mit Quecksilbersalzen. Arch. Mikr. Anat. 37. Bd., p. 16—21, T. 2.

—, **98.** Der feinere Bau der Spinalganglienzelle des Kaninchens. Anat. Hefte. 31. Heft, p. 73—104. Taf. 1—6.

Czapski, S., **93.** Theorie der optischen Instrumente nach Abbe. Breslau, E. Trewendt.

Czokor, J., **80.** Die Cochenille-Karminlösung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 18.

Daddi, L., **96.** Nouvelle méthode pour colorer la graisse dans les tissus. Arch. ital. Biol. 26. Bd., p. 142—146.

Dejerine, J., **95.** Anatomie des Centres nerveux. Tome I. Paris.

Dippel, L., **82** und **98.** Das Mikroskop und seine Anwendung, I. Teil. Handb. d. allgemeinen Mikroskopie. 2. Aufl. Braunschweig, 1882; II. Teil, 2. Aufl. 1898.

Dogiel, A. S., **90.** Methylenblautinktion der motorischen Nervenendigungen in den Muskeln der Amphibien und Reptilien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35.

—, **02.** Technik der Färbung des Zentralnervensystems mit Methylenblau. Russisch. Ricker.

—, **03.** Artikel »Methylenblau zur Nervenfärbung« in der Encyklopädie der mikrosk. Technik.

Dreser, 86. Zur Chemie der Netzhautstäbchen. Zeitschrift für Biologie. Bd. 22.

Duval, M., **78.** Précis de technique microscopique et histologique. Paris.

Eberth, C. J., **71 72.** Die Nebennieren. In Strickers: Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

—, **82.** Untersuchungen über die Ursache der Anisotropie organischer Substanzen. Leipzig.

Ebner, V. v., **75.** Über den feineren Bau der Knochensubstanz. Sitz.-Ber. Akad. Wien. Bd. 72, 3. Abt., p. 1—90, T. 1—4.

—, **91.** Histologie der Zähne mit Einschluß der Histogenese. In: Handb. d. Zahnheilkunde von J. Scheff. jr., 1. Bd. Wien.

—, **99.** Über die Wand der kapillaren Milzvenen. Anat. Anz. Bd. 15.

Ehrlich, P., **76.** Beiträge zur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik. Arch. f. mikr. Anatomie, 13. Bd.

—, **85.** Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie. Berlin.

—, **91.** Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. I. Teil. (Enthält gesammelte Abhandlungen von ihm und Arbeiten seiner Schüler Westphal, Spilling, Schwarze.)

Encyklopädie der mikroskopischen Technik, **03.** Herausgeg. von P. Ehrlich, R. Krause, Max Mosse, H. Rosin und Karl Weigert. Berlin und Wien.

Enderlen, E., **91.** Fasern im Knochenmarke. Anat. Anz.

Engel, C. S., **98.** Leitfaden zur Untersuchung des Blutes. Berlin.

Ewald, A., **97.** Beiträge zur histologischen Technik. Zeitschr. für Biologie. Jubelband für Kühne 1896. N. F. 16. Bd. der ganzen Reihe 34. Bd., p. 246—267 auf S. 254 dieser Arbeit lies Dr. Mays statt Dr. Mags).

Ewald, A., und **Kühne,** W., **74.** Die Verdauung als histologische Methode. Verh. Naturhist. Ver. Heidelberg (N. F.), Bd. 1, p. 451—456.

Fick, R., **93a.** Über Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Verhandl. d. Anat. Gesellsch.

—, **93b.** Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 56.

Fischer, A., **93.** Zur Kritik der Fixierungsmethoden und der Granula. Anat. Anz. 9. Bd.

—, **99.** Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena, G. Fischer.

Fischer, E., **75.** Eosin als Tinktionsmittel für mikroskopische Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 12.

—, **76.** Über die Endigungen der Nerven im quergestreiften Muskel der Wirbeltiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.

Flechsig, P., **76.** Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen. Leipzig.

Fleischl, E., **74.** Über die Beschaffenheit d. Achsenzylinders. Beiträge Anat. Phys. Festgabe f. Karl Ludwig, p. 51—55. 1 Taf. Leipzig.

Flemming, W., **82.** Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. p. VIII und 1—424. 24 Fig. und 8 Taf. Leipzig.

—, **86.** Surrogate für Knochenschliffe. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

—, **89a.** Über die Löslichkeit osmierten Fettes und Myelins in Terpentinöl. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, 6. Bd., p. 39—40.

—, **89b.** Weiteres über die Entfärbung osmierten Fettes in Terpentin und anderen Substanzen. Ibidem, p. 178—181.

—, **91a.** Über Teilung und Kernformen bei Leukozyten und über deren Attraktionssphären. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. XXXVII, p. 249—298.

—, **91b.** Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. XXXVII, p. 685—751.

—, **95a.** Über die Wirkung von Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45.

—, **95b.** Über den Bau der Spinalganglien bei Säugetieren, und Bemerkungen über den der zentralen Zellen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.

Flesch, M., **80.** Untersuchungen über die Grundsubstanz des hyalinen Knorpels, p. 1—102, 5 T. Würzburg.

Fol, H., **84** und **96.** Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie mit Einschluß der vergleichenden Histologie und Histogenie. p. 1—452, 220 Fig. Leipzig.

Forel, A., **77.** Untersuchungen über die Haubenregion und ihre oberen Verknüpfungen im Gehirne des Menschen und einiger Säugetiere mit Beiträgen zu den Methoden der Gehirnuntersuchung. Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkrankheiten. Bd. 7.

Foster und **Balfour,** übersetzt von **Kleinenberg,** N., **76.** Grundzüge der Entwickelungsgeschichte der Tiere, p. XX und 1—267, 71. Fig. Leipzig.

Franke, Ad., **81.** Die Reptilien und Amphibien Deutschlands. Leipzig.

Frey, H., **68.** Die Hämatoxylinfärbung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 4.

Friedländer, 82. Mikroskopische Technik. Berlin.

Frommann, C., **64a.** Über Färbung der Binde- und Nervensubstanz des Rückenmarkes durch arg. nitr. und über die Struktur der Nervenzellen. Virchows Arch. Bd. 31.

—, **64b.** Zur Silberfärbung d. Achsenzylinder. Virchows Arch. Bd. 31.

Froriep, A., **78.** Über das Sarkolemm und die Muskelkerne. Arch. f. Anat. und Physiol. Anat. Abt.

Gad, J. (Methode von Chr. Sihler), **95.** Über eine leichte und sichere Methode, die Nervenendigung an Muskelfasern und Gefäßen nachzuweisen. Verhandl. der Berliner Physiol. Gesellsch. in: Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abt.

Gasser, 78. Der Primitivstreif bei Vogelembryonen. Kassel.

Gaule, 81. Das Flimmerepithel der Aricia foetida. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt. p. 153—159, 1 Taf.

Gerlach, J., **58.** Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie. p. VI und 1—72, 8 Taf. Erlangen.

—, **71, 72.** Von dem Rückenmark. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. p. 665—693, Fig. 217—229. Leipzig.

Gierke, H., **84, 85.** Färberei zu mikroskopischen Zwecken, Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 1 und 2.

Giesbrecht, W., **81.** Zur Schneide-Technik. Zool. Anz. 4 Jahrg.

Goldscheider, 86. Demonstration von Präparaten, betreffend die Endigung der Temperatur- und Drucknerven in der menschlichen Haut. Verhandl. der Physiol. Ges. zu Berlin, 1885. Arch. f. Anat. und Physiol., Physiol. Abt.

Golgi, C., **94.** Untersuchungen über den feineren Bau des zentralen und peripherischen Nervensystems. p. 1—272, 30 Taf. Deutsch von R. Teuscher, Jena. (Enthält sämtliche Untersuchungen Golgis über das obige Thema seit 1871.)

Grawitz, E., **02.** Methodik d. klinisch. Blut-Untersuch. 2. Aufl. Berlin.

Greef, R., **01.** Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung des Auges. 2. Aufl.

Grenacher, A., **79.** Einige Notizen zur Tinktionstechnik, besonders zur Kernfärbung. Arch. Mikr. Anat. 16. Bd., p. 463—471.

Grosser, O., **00.** Injektion mit Eiweißtusche. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. 17.

Gscheidlen, R., **76.** Physiologische Methodik. Braunschweig.

Gudden, H., **97.** Über die Anwendung elektiver Färbemethoden am in Formol gehärtetem Zentralnervensystem. Neurolog. Zentralblatt, 16. Jahrg.

—, **01.** Über eine neue Modifikation der Golgischen Silberimprägnationsmethode. Neurolog. Zentralblatt, 20. Jahrg.

Gulland, G. Lovell, **91.** A simple method of fixing paraffin sections to the slide. Journ. of anat. and physiol. Vol. XXVI, p. 56—59.

Gurwitsch, A., **01.** Ein schnelles Verfahren der Eisenhämatoxylinfärbung. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie, Bd. 18.

Häcker, V., **99.** Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. 137 Abb. 260 p. G. Fischer, Jena.

Hällstén, 86. Ein Kompressorium für mikroskopische Zwecke. Zeitschr. f. Biologie. Bd. 22.

Halliburton, W. D., **95.** Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie. Deutsch von K. Kaiser. 2. Aufl. Heidelberg.

Hammer, Bernh., **91.** Über das Verhalten von Kernteilungsfiguren in der menschlichen Leiche. Dissert. Berlin. 39 p.

Hannover, 40. Die Chromsäure, ein vorzügliches Mittel bei mikroskopischen Untersuchungen. Joh. Müllers Archiv.
Hansen, Fr. C. C., **95.** Eine schnelle Methode zur Herstellung des Böhmerschen Hämatoxylins. Zool. Anz. Nr. 473.
—, **98a.** Eine zuverlässige Bindegewebsfärbung. Anat. Anz. 15. Bd., p. 151—153.
—, **98b.** Über die Genese einiger Bindegewebsgrundsubstanzen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 417—438.
Haug, R., **91a.** Die gebräuchlichsten Entkalkungsmethoden. Eine technisch-histologische Studie. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.
Haug, R., **91b.** Über eine neue Modifikation der Phorogluzin-Entkalkungsmethode. Zentralblatt f. allg. Path. und path. Anat. Bd. 2.
Heidenhain, M., **92.** Über Kern und Protoplasma. Festschr. f. Kölliker. Leipzig. p. 109—166, Taf. 9—11.
—, **94.** Neue Untersuchungen über die Zentralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellprotoplasma. Archiv. f. mikr. Anat. 43. Bd., p. 423—758, T. 25—31.
—, **96.** Noch einmal über die Darstellung der Zentralkörper durch Eisenhämatoxylin nebst einigen allgemeinen Bemerkungen über die Hämatoxylinfarben. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 13., p. 186—199.
—, **03.** Artikel »Färbungen« in der Encyklopädie der mikroskop. Technik.
—, **03a.** Über die Verwertung der Zentrifuge bei Gelegenheit der Herstellung von Präparaten isolierter Zellen zu Kurszwecken. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 20.
—, **03b.** Über die zweckmäßige Verwendung des Kongo und anderer Amidoazokörper, sowie über neue Neutralfarben.
Heidenhain, R., **70.** Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 6, p. 368—406, 2 Taf.
—, **80.** Physiologie der Absonderungsvorgänge. Handbuch der Physiol. von L. Hermann. Bd. V, p. 1—420.
—, **86.** Eine Abänderung der Färbung mit Hämatoxylin und chromsauren Salzen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 27.
—, **88.** Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut. Arch. f. d. ges. Physiol. Pflüger. 43. Bd. Suppl.
Helly, K., **04.** Eine Modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 20.
Henle, J., **71.** Handbuch der systematischen Anat. des Menschen. Bd. 3, Abt. 2 (Vorrede).
Hensen, V., **76.** Beobachtungen über die Befruchtung und Entwicklung des Kaninchens und Meerschweinchens. Zeitschr. f. Anat. und Entw. Bd. 1, p. 213 und 353.
Hermann, F., **93.** Technik. Methoden zum Studium des Archiplasmas und der Centrosomen tierischer und pflanzlicher Zellen. Ergeb. d. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 2, Abt. 2.
—, **94.** Notiz über die Anwendung des Formalins als Härtungs- und Konservierungsmittel. Anat. Anz. Bd. 9.

Hertwig, O., **83.** Die Entwicklung des mittleren Keimblattes der Wirbeltiere. Jena.

Herxheimer, K., **89.** Über eigentümliche Fasern in der Epidermis und im Epithel gewisser Schleimhäute des Menschen. Arch. f. Dermat. u. Syphil. Bd. 21.

His, W., **61.** Untersuchungen über den Bau der Lymphdrüsen. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 11 Bd., 24 p., Taf. 8, 9.

—, **68.** Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbeltierleibes. Leipzig.

—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion und über deren Bedeutung für Anat. und Entwicklungsgesch. Anat. Anz. 2. Jahrg.

Hoehl, E., **97.** Zur Histologie des adenoiden Gewebes mit 2 Taf. Arch. f. Anat. und Physiol., Anat. Abt. 1897. p. 133—152.

Holmgren, E., **99.** Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. Anat. Anz. Bd. 16, p. 388—397.

—, **01.** Beiträge zur Morphologie der Zelle. 1. Nervenzellen. Anat. Hefte, 1. Abt., Heft 59 (18. Bd. H. 2).

Holmgren, F., **74.** Methode zur Beobachtung des Kreislaufs in der Froschlunge. Beiträge zur Anat. und Physiol. Festgabe für Ludwig. Leipzig.

Hoppe-Seyler, F., und **Thierfelder**, H., **93.** Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. 6. Aufl. Berlin.

Hoyer, H., **90.** Über den Nachweis des Muzins in Geweben mittels d. Färbemethode. Arch. Mikr. Anat. 36. Bd., p. 310—374.

Jackson, C. J., **04.** Zur Histologie und Histogenese des Knochenmarkes. Arch. f. Anat. und Entwickl.

Joseph, M., und **Loewenbach**, G., **00.** Dermato-histologische Technik. 2. Aufl. Berlin.

Kaes, Th., **91.** Die Anwendung der Woltersschen Methode auf die feinen Fasern der Hirnrinde. Neurologisches Zentralblatt.

v. Kahlden, **95** und **98.** Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate. 4. Aufl. 1895 und 5. Aufl. 1898. Jena, G. Fischer.

Kaiserling, C., und **Germer**, R., **93.** Über den Einfluß der gebräuchlichen Konservierungs- und Fixationsmethoden auf die Größenverhältnisse tierischer Zellen. Virchows Arch. Bd. 133, p. 79—104.

Kallius, E., **92.** Ein einfaches Verfahren, um Golgische Präparate für die Dauer zu fixieren. Anat. Hefte, 1. Abt., 5. Heft, p. 271—275.

Kann, H., **89.** Über das Epithel des Ureters. Inaug.-Diss. München. 26 p., 1 Taf.

Kastschenko, N., **86.** Methode zur genaueren Rekonstruktion kleinerer makroskopischer Gegenstände. Arch. für Anat. u. Physiol., Anat. Abt.

—, **87.** Die graphische Isolierung. Anat. Anz. Bd. 2.

—, **88.** Über das Beschneiden mikroskopischer Objekte. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

Key, A., und **Retzius,** G., **82.** Über die Anwendung der Gefrierungsmethode in der histologischen Technik. Biologische Untersuchungen, herausg. von G. Retzius.

S. auch: Om trysningsmetodens användande vid histologisk teknik. Nordisk Medicinsk Arkiv Bd. 6, 1874.

Klaatsch, H., **87.** Zur Färbung von Ossifikationspräparaten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

Koch, G. v., **78.** Über die Herstellung dünner Schliffe von solchen Objekten, welche aus Teilen von sehr verschiedener Konsistenz zusammengesetzt sind. Zool. Anz. 1. Jahrg. p. 36 bis 37.

Kockel, 99. Eine neue Methode der Fibrinfärbung. Zentralbl. f. Allg. und Pathol. Anat. X. Bd., p. 749—757.

Kölliker, A., **81.** Zur Kenntnis des Baues der Lunge des Menschen. Verh. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg, Bd. 16.

—, **86.** Der feinere Bau des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XLIV, p. 1—37.

—, **93.** Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. Bd. 2, 1. Hälfte. Leipzig.

Kolossow, A., **92.** Über eine neue Methode der Bearbeitung der Gewebe mit Osmiumsäure. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 9.

—, **98.** Eine Untersuchungsmethode des Epithelgewebes, besonders der Drüsenepithelien, und die erhaltenen Resultate. Mit 3 Taf. Arch f. mikrosk. Anat. 52. Bd.

Kopsch, Fr., **96.** Erfahrungen über die Verwendung des Formaldehyds bei der Chromsilber-Imprägnation. Anat. Anz. XI. Bd., p. 727.

—, Fr., **98.** Die Entwicklung der äußeren Form des Forellen-Embryos. Arch. f. mikrosk. Anat. u. Entwickelungsgesch. 51. Bd., p. 181—213, T. X. u. XI.

—, **02.** Die Darstellung des Binnennetzes Golgi in spinalen Ganglienzellen und anderen Körperzellen mittels Osmiumsäure. Sitz.-Ber. K. preuß. Akad. Wiss. Berlin. Bd. 39.

Kostanecki, K., und **Siedlecki,** M., **97.** Über das Verhältnis der Zentrosomen zum Protoplasma. Arch. f mikr. Anat. Bd. 48.

Krause, C., **44.** Artikel Haut in: Handwörterb. d. Physiol., herausg. von R. Wagner. 2. Bd. Braunschweig.

Krause, R., **93.** Beiträge zur Histologie der Wirbeltierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42, p. 53—82.

Krause, W., **84.** Untersuchungsmethoden. Internation. Monatsschrift f. Anat. und Histol. Bd. 1.

Krönig, 86. Einschlußkitt für mikroskopische Präparate. Arch. mikr. Anat. 27. Bd., p. 657—658.

Kromayer, E., **92.** Die Protoplasmafaserung der Epithelzelle. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 39.

Kronthal, P., **99.** Eine neue Färbung für das Nervensystem. Neurolog. Zentralblatt Nr. 5, p. 196—203.

Krysinski, S., **87.** Beiträge zur histologischen Technik. Virchows Arch. Bd. 108, p. 217—219.

Kühne, W., **62.** Über die peripherischen Endorgane der motorischen Nerven. Leipzig.

—, **86.** Neue Untersuchungen über die motorische Nervenendigung. Zeitschr. f. Biol. München. Bd. 23.

Kühne, W., und **Chittenden,** R. H., **89.** Über das Neurokeratin. Zeitschr. f. Biologie.

Kühne, W., und **Lea,** A. Sch., **74.** Über die Absonderung des Pankreas. Verh. d. Naturhist. Ver. Heidelberg. (N. F.) Bd. 1.

Kultschizky, N., **87a.** Zur histologischen Technik. II. Zelloidin-Paraffin-Einbettung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und f. mikr. T. Bd. IV, p. 48—49.

—, **87b.** Zur Kenntnis der modernen Fixierungs- und Konservierungsmittel. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.

—, **90.** Über Färbung der markhaltigen Nervenfasern in den Schnitten des Zentralnervensystems mit Hämatoxylin und Karmin. Anat. Anz. Jahrg. 5.

Kupffer, C., **76.** Über Sternzellen der Leber. Arch. mikr. Anat. 12. Bd., p. 353—358.

—, **83,** 2. Über den ›Axenzylinder‹ markhaltiger Nervenfasern. Sitz.-Ber. Akad. München. 13. Bd., p. 466—475, 1 Taf.

—, **89.** Über den Nachweis der Gallenkapillaren und spezifischer Fasern in den Leberläppchen durch Färbung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. Phys. München. 5. Bd., p. 82—86.

—, **99.** Über die sog. Sternzellen der Säugetierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54, H. 2, p. 254—288, mit 3 Taf.

Lakhart, Clarke, **57.** Researches into the structure of the spinal chord. Philos. Trans. of the Royal Soc. of London, Part 2.

Lang, Arnold, **78.** Konservation der Planarien. Zool. Anz. 1. Jahrg.

Langendorff, O., **89.** Beiträge zur Kenntnis der Schilddrüse. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt., Suppl. p. 219—242, T. 5.

Leber, T., **68.** Zur Kenntnis der Imprägnationsmethoden der Hornhaut und ähnlicher Gewebe. Arch. f. Ophthalmologie. Bd. 14.

Ledermann und **Blanck, 02.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Ein Rückblick auf die Jahre 1895—1900. Dermatolog. Zeitschrift und Separat, Berlin.

Ledermann, R., und **Ratkowski, 94.** Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie. Wien und Leipzig. W. Braumüller.

Lee, A. B., und **Mayer,** P., **01.** Grundzüge der mikroskopischen Technik für Zoologen und Anatomen. Berlin. 2. Aufl.

Lenhossék, M. v., **95.** Der feinere Bau des Nervensystems im Lichte neuerer Forschungen. Berlin. 2. Aufl.

—, **98.** Bemerkungen über den Bau der Spinalganglienzellen. Neurol. Zentralblatt. Jahrg. 17, p. 577—593.

—, **04.** Ergänzungsheft z. 25. Bd. des Anat. Anzeigers, S. 183.

Lepkowsky, W., **92.** Beitrag zur Histologie des Dentins mit Angabe einer neuen Methode. Anat. Anz. Bd. 7.

Löwit, 75. Die Nerven der glatten Muskulatur. Wiener Sitz.-Ber. Bd. 71.

London, B., **81.** Das Blasenepithel bei verschiedenen Füllungszuständen der Blase. Arch. Anat. Phys. Phys. Abt. p. 317—330.

Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern, **84.** Über Endorgane der sensiblen Nerven in der Zunge der Spechte. Münchener akad. Sitz.-Ber.

Lundvall, H., **04.** Über Demonstration embryonaler Knorpelskelette. Anat. Anz. Bd. 25.

Maas, Otto, **99.** Verlauf und Schichtenbau des Darmkanals von Myxine glutinosa L. Mit 3 Taf. Festschr. zum 70. Geburtstage v. Kupffers p. 197—219.

Mall, F., **91.** Das reticulierte Gewebe und seine Beziehungen zu den Bindegewebsfibrillen. Abh. Math. Physik. Class. Sächs. Ges. Wiss. 17. Bd., p. 299—338.

—, **96.** Reticulated tissue, and its relation to the Connective tissue fibrils. From the Johns Hopkins Hospital Reports. Vol. I. Baltimore.

Mallory, F. B., **91.** Phospho-molybdic Acid Haematoxylon. Anat. Anz. Jahrgg. 16.

—, **00.** A contribution to staining methods. Journ. Exper. Med. Vol. 5. Referirt in: Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 18.

Marchi et **Alghieri, 85.** Sulla degenerazioni discendenti consecutivi a lesioni della corteccia cerebrale. Rivista sperimentale di frenatria. Vol. XI.

May, R. und **Grünwald,** L., **02.** Über Blutfärbung. Zentralbl. f. innere Medizin, Jahrg. 23. Refer. in: Münch. Medizin. Wochenschr. 02.

Mayer, P. **81.** Über die in der Zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 2, p. 1—27.

—, **83.** Einfache Methode zum Aufkleben mikroskopischer Schnitte. Mitt. Zool. Station Neapel. Bd. 2, p. 521—522.

—, **87.** Aus der Mikrotomtechnik. Internat. Monatsschr. f. Anat. und Physiol. Bd. 4.

—, **91.** Über das Färben mit Hämatoxylin. Mitt. Zool. Station zu Neapel. 10. Bd., p. 170—186.

—, **92.** Über das Färben mit Karmin, Kochenille und Hämatein-Thonerde. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 10.

—, **96.** Über Schleimfärbung. Mitt. Zool. Stat. Neapel. Bd. 12.

—, **01.** Siehe **Lee,** A. B., und **Mayer,** P.

—, **04.** Notiz über Hämatein und Hämalaun. Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikrosk. Bd. 20.

Mercier, A., **94.** Die Zenkersche Flüssigkeit, eine neue Fixierungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 11.

Merkel, F., **70.** Über die Macula lutea des Menschen und die Ora serrata einiger Wirbeltiere. Leipzig.

—, **77.** Eine neue Methode für Untersuchung des Zentralnervensystems. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 14.

—, **83.** Die Speichelröhren. Rektoratsprogramm Rostock. p. IV und 1—28, 2 Taf. Leipzig.

Meves, Fr., **04.** Hünefeld-Hensensche Bilder der roten Blutkörperchen der Amphibien. Anat. Anz. Bd. 24.

—, **03.** Artikel »Flemmingsche Flüssigkeit«, »Flemmingsche Dreifachfärbung« in Enzyklopädie d. mikr. Technik.

Meyer, S., **95.** Die subkutane Methylenblauinjektion, ein Mittel zur Darstellung der Elemente des Zentralnervensystems vom Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 46.

—, 96. Über eine Verbindungsweise der Neuronen. Nebst Mitteilungen über die Technik und die Erfolge der Methode der subkutanen Methylenblauinjektion. Arch. f. mikr. Anat. und Entwicklungsgesch. Bd. 47, p. 734—748. Mit 1 Taf.

Michaelis, H., **03.** Methode, Paraffinschnitte aufzukleben. Zentralbl. f. allg. Pathol. und pathol. Anat. Bd. 14.

Minot, Ch. S., **97.** On two forms of automatic microtomes. Science. N. S., vol. V, p. 857 ff.

Moleschott, Jak., **59.** Ein Beitrag zur Kenntnis der glatten Muskeln. Untersuchungen zur Naturlehre d. Menschen und d. Tiere. Bd. 6.

Moleschott, J., **Piso-Borme,** G., **63.** Über das Vorkommen gabelförmiger Teilungen an glatten Muskelfasern. Untersuch. zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. Bd. 9.

Müller, Erik, **92.** Zur Kenntnis der Labdrüsen der Magenschleimhaut Verhandlungen d. Biol. Vereins in Stockholm. Bd. 4, Nr. 8.

—, **95.** Über Sekretkapillaren. Arch. f. mikrosk. Anat Bd. 45, H. 3, p. 463—474.

Müller, H. F., **92.** Die Methoden der Blutuntersuchung. Zusammenfassendes Referat. Zentralbl. Allg. Path. Path. Anat. 3. Bd., p. 801—820, 851—872.

Müller, H., **59.** Anatomische Untersuchung eines Mikrophthalmus. Verhandl. d. Physik.-med. Gesellsch. in Würzburg.

Auch in: Heinrich Müllers Gesammelte und hinterlassene Schriften zur Anatomie und Physiologie des Auges. 1. Bd. Gedrucktes. Zusammengestellt und herausgeg. von Otto Becker, S. 381.

Nablas, de, **04.** Nouvelle méthode de coloration rapide du système nerveux au chlorure d'or. Bibliogr. anatom. Bd. 13.

Neelsen und **Schiefferdecker,** P., **82.** Beitrag zur Verwendung der ätherischen Öle in der histologischen Technik. Arch. f. Anat. und Phys. Anat. Abt.

Negro, C., **87.** Sur les terminaisons nerveuses motrices. Arch. ital. de biol. T. 9.

Neuhauss, R., **98.** Lehrbuch der Mikrophotographie. Braunschw. H. Bruhn. 2. Aufl.

Nissl, F., **94a.** Über die sog. Granula der Nervenzellen. Neurolog. Zentralbl. Nr. 19, 21, 22.

Nissl, F., **94b.** Mitteil. über Karyokinese im zentralen Nervensystem. Bericht über die 25. Versammlung des Südwestdeutschen psychiatrischen Vereins in Karlsruhe am 11. u. 12. Nov. 1893. In: Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychisch-gerichtliche Medizin. 51. Bd., p. 245—247.

—, **95.** Der gegenwärtige Stand der Nervenzellenanatomie und -Pathologie. Zeitschr. f. Psychiatrie. Bd. 51.

—, **03.** Artikel »Nervensystem« in der Encyklopädie der mikr. Technik.

Novak, K., **02.** Neue Untersuchungen über die Bildung der beiden primären Keimblätter und die Entstehung des Primitivstreifens beim Hühnerembryo. Berlin. Diss.

Nuel, J. P., et **Cornil**, F., **90.** De l'endothelium de la chambre antérieure de l'oeil, particulièrement de celui de la cornée. Archives de Biologie. T. 10.

Obersteiner, H., **01.** Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Zentralorgane im gesunden und kranken Zustande. 4. Aufl. Leipzig und Wien.

Obregia, A., **90.** Serienschnitte mit Photoxylin oder Celloidin. Neurologisches Zentralbl. Bd. 9.

Oppel, A., **90.** Eine Methode zur Darstellung feinerer Strukturverhältnisse der Leber. Anat. Anz., 5. Jahrg., p. 143—145.

—, **91.** Über Gitterfasern der menschlichen Leber und Milz. Anat. Anz., 6. Jahrg., p. 165—173, 4 Fig.

Pal, J., **86.** Ein Beitrag zur Nervenfärbetechnik. Med. Jahrb. Wien. p. 619—631.

Perényi, J., **82.** Über eine neue Erhärtungsflüssigkeit. Zool. Anz. 5. Jahrg.

Peter, K., **99.** Demonstration des Born-Peterschen Verfahrens zur Herstellung von Richtebenen und Richtlinien usf. Verh. d. Anat. Gesellsch. in Tüb. 21./24. V. 1899.

—, **03.** Artikel »Plastische Rekonstruktion« in der Encyklopädie der Mikr. Technik.

Petri, R. J., **96.** Das Mikroskop. Von seinen Anfängen bis zur jetzigen Vervollkommnung. Berlin. R. Schoetz. 248 p., 191 Abb. im Text.

Pfitzner, W., **80.** Die Epidermis der Amphibien. Morph. Jahrb. Bd. 6.

—, **82.** Über den feineren Bau der bei der Zellteilung auftretenden fadenförmigen Differenzierungen des Zellkernes. Morph. Jahrb. 7. Bd.

Plehn, F., **90.** Ätiologische und klinische Malaria-Studien. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8. S. 359 (H. F. Müllers Blutreferat p. 809).

Pleuge, H., **96.** Härtung mit Formaldehyd und Anfertigung von Gefrierschnitten, eine für die Schnelldiagnose äußerst brauchbare Methode. Münchener mediz. Wochenschr. Nr. 4.

Podwissotzki, **87.** Über die Beziehungen der quergestreiften Muskeln zum Papillarteil der Lippenhaut. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30, p. 327, T. 17.

Politzer, A., **89.** Die anatomische und histologische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans im normalen und kranken Zustande. Stuttgart.

Poliack, B., **98.** Die Färbetechnik des Nervensystems. 2. Aufl. Berlin (IV, 172 p).

Prudden, J. M., **85.** Fragekasten. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. 2.

Rabl, C., **85.** Über Zellteilung. Morph. Jahrb. 10. Bd., p. 214 bis 330, T. 7—13.

—, **94.** Einiges über Methoden. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. XI.

—, **00.** Über den Bau und Entwicklung der Linse. Leipzig.

Rabl, H., **91.** Die Entwicklung und Struktur der Nebennieren bei den Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 38.

Ranvier, 68. Technique microscopique. Journal de l'Anat.

— **75.** Des préparations du tissu osseux avec le bleu d'aniline insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcohol. Travaux Lab. Histol. p. 16—21.

—, **78.** Leçons sur l'histologie du système nerveux. Bd. 1, p. III und 1—352. 4 Taf. 20 Fig. und Bd. 2, 380 p., 8 Taf.

—, **80.** Leçons d'anatomie générale sur le système musculaire. p. 1—466, 99 Fig. Paris.

—, **81.** Leçons d'anatomie générale. Terminaisons nerveuses sensitives Cornée. p. XX, 447, 54 Fig. Paris.

—, **89.** Traité technique d'histologie. Paris, 2 éd.

Vom Rath, O., **95.** Zur Konservierungstechnik. Anat. Anz. 11. Bd., p. 280—288.

Rauber, A., **76.** Über die Stellung des Hühnchens im Entwicklungsplan. Engelmann.

Rawitz, B., **95a.** Die Verwendung der Alizarine und Alizarincyanine in der histologischen Technik. Anat. Anz. Bd. 11.

—, **95b.** Über eine Modifikation in der substantiven Verwendung des Hämateins. Anat. Anz. Bd. XI, p. 301—303.

Rehm, 92. Einige neue Färbungsmethoden zur Untersuchung des zentralen Nervensystems. Münchener mediz. Wochenschrift, Jahrg. 39.

Reichert, K. B., **49a.** Die glatten Muskelfasern in den Blutgefäßwandungen. Müllers Archiv.

Auch: Observationes microchemicae circa nonnullas animalium telas. Dorpati, 1848, Paulsen.

—, **49b.** Beobachtungen über eine eiweißartige Substanz in Kristallform. Müllers Arch., Jahrg. 1849.

Reinke, Fr., **93.** Über einige Versuche mit Lysol an frischen Geweben zur Darstellung histologischer Feinheiten. Anat. Anz. p. 18—19.

—, **95.** Die japanische Methode zum Aufkleben von Paraffinschnitten. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 12.

Renaut, J., **97** u. **99.** Traité d'histologie pratique. Tome II, fasc. 1. Paris 1897. Tome II, fasc. 2. Paris 1899.

Retzius, G., **84.** Das Gehörorgan der Wirbeltiere. 2. Bd. (Reptilien, Vögel und Säuger.) Stockholm.

Riese, H., **91.** Über die Technik der Golgischen Schwarzfärbung durch Silbersalze etc. Zentralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. II. Bd., p. 497—519.

Röse, C., **92.** Über die v. Kochsche Versteinerungsmethode. Anat. Anz. VII. Jahrg., p. 512—519.

—, **93.** Über die Zahnentwicklung der Krokodile. Morpholog. Arb. von G. Schwalbe. III. Bd., 2. H., p. 195—228.

Röthig, P., **04.** Handbuch der embryologischen Technik. Wiesbaden.

Rollett, A., **58.** Untersuchungen über die Struktur des Bindegewebes. Sitz.-Ber. d. math.-naturw. Klasse d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. XXX. Bd.

—, **71.** Von den Bindesubstanzen. Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben. Leipzig.

—, **72.** Über die Hornhaut. Handbuch der Lehre von den Geweben. Herausg. von Stricker.

—, **85.** Untersuchungen über den Bau der quergestreiften Muskelfasern. Denkschr. Akad. Wien, math.-naturw. Kl. B. 49, Abt. 1, p. 81—132 und Bd. 51, Abt. 1, p. 23—68.

—, **89.** Anatomische und physiologische Bemerkungen über die Muskeln der Fledermäuse in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Wien. 98. Bd. 3. Abt. math.-nat. Kl. p. 169—183, 4 Taf.

Rosenthal, Werner, **00.** Über den Nachweis von Fett durch Färbung. Verhandl. d. deutsch. pathol. Gesellsch. in Verhandl. d. Gesellsch. deutscher Naturf. u. Ärzte. 71. Versammlung, München, 1899.

Rückert, J., **92.** Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeies bei Selachiern. Anat. Anz. 7. Jahrg.

Sauer, H., **95.** Neue Untersuchungen über das Nierenepithel und sein Verhalten bei der Harnabsonderung. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw. Bd. 46.

Schaffer, J., **88.** Die Färberei zum Studium der Knochenentwicklung. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 5.

—, **93.** Die Methode der histologischen Untersuchung des Knochengewebes. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 10.

—, **96.** Mikrotechnisches Histologisches. Geschichte des Mikroskops. Wien. Klin. Wochenschr. Jahrg. 1896, Nr. 45.

—, **99.** Zur Kenntnis der glatten Muskelzellen, insbesondere ihrer Verbindung. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. 66, p. 214—268.

—, **03.** Artikel »Knochen und Zähne« in der Enzyklopädie der mikrosk. Technik.

Schiefferdecker, P., **82.** Über die Verwendung des Zelloidins in der anatomischen Technik. Arch. Anat. u. Phys., Anat. Abt.

—, **86.** Methode zur Isolierung von Epithelzellen. Jahrb. f. wiss. Mikr. Bd. 3.

Schmaus, H., **91.** Technische Notizen zur Färbung der Achsenzylinder. Münchener mediz. Wochenschr.

Schmorl, G., **01.** Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 2. Aufl. Leipzig.

Schneider, A., **80.** Über Befruchtung. Zoolog. Anz.

Schuberg, A., **03.** Untersuchungen über Zellverbindungen. Zeitschrift f. wiss. Zool. Bd 74.

Schultze. M., **64.** Die Anwendung mit Jod konservierter tierischer Flüssigkeiten als macerierendes und konservierendes Mittel bei histologischen Untersuchungen. Virchows Arch. Bd. 30, p. 263—265.

—, **65.** Ein heizbarer Objekttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

—, **71.** Essigsaures Kali zum Aufbewahren mikroskopischer Präparate. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 7.

Schultze, M., und **Rudneff,** M., **65.** Weitere Mitteilungen über die Einwirkung der Überosmiumsäure auf tierische Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 1.

Schultze, O., **87.** Untersuchungen über Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 45.

—, **97.** Grundriß der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Säugetiere. Leipzig.

—, **99.** Über das erste Auftreten der bilateralen Symmetrie im Verlauf der Entwicklung. Arch. f. Anat. und Entwicklungsgesch. 55. Bd., p. 171—230 m. T. XI und XII und 2 Textfig.

— **04.** Über Stückfärbung mit Chromhämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 21.

Schulze, F. E., **71.** Die Lungen. Strickers Handb. der Lehre von den Geweben. Leipzig.

Schwalbe, E., **00.** Untersuchungen zur Blutgerinnung. Braunschweig.

—, **01.** Technische Bemerkungen zur Karminfärbung des Zentralnervensystems. Zentralbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat. Bd. 12.

Schweigger-Seidel, F., **65.** Die Nieren des Menschen und der Säugetiere in ihrem feineren Baue. p. 1—92, 4. Taf. Halle.

Seligmann, S., **99.** Die mikroskopischen Untersuchungsmethoden des Auges.

Sobotta, E., **95.** Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus. Arch. f. mikr. Anat Bd. 45, p. 15—93.

Solger, B., **83.** Über die Einwirkung des Wasserstoffhyperoxydes auf tierische Gewebe. Zentralbl. f. d. med. Wiss.

—, **89 a.** Kohlensaurer Ammoniak, ein Mittel zur Darstellung des Sarkolemmas. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 6.

—, **89 b.** Zur Struktur der Pigmentzelle. Zool. Anz. 12. Jahrg.

—, **93.** Zur Kenntnis osmierten Fettes. Anat. Anz. Bd. 8.

—, **96.** Über den feineren Bau der Glandula submaxillaris des Menschen, mit besonderer Berücksichtigung der Drüsengranula. 2 Taf. Festschr. z. 70. Geburtstag von Gegenbaur. Bd. 2, p. 179—248.

Spalteholz, W., **04.** Mikroskopie und Mikrochemie. Leipzig.
—, **03.** Artikel »Verdauung, künstliche, als histologische Methode« in Encyklopädie d. Mikrosk. Technik.
Spee, Graf F., **85.** Leichtes Verfahren zur Erhaltung linear geordneter lückenloser Schnittserien mit Hilfe von Schnittbändern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. und für mikroskop. Techn. Braunschweig. Bd. 2.
—, **87.** Über die ersten Vorgänge der Ablagerung des Zahnschmelzes. Anat. Anz. 2. Jahrg.
Spuler, A., **01.** Über eine neue Stückfärbemethode. Deutsche med. Wochenschrift. Bd. 27.
Stintzing, R., **99.** Zur Struktur der Magenschleimhaut. Festschrift für v. Kupffer. p. 53—56.
Stöhr, Ph., **94** und **98.** Lehrbuch der Histologie. 6. Aufl. 1894 und 8. Aufl. 1898. Jena. G. Fischer.
Stofs, A., **91.** Konstruktion eines Kühlmessers. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 8.
Strasser, H., **86.** Über das Studium der Schnittserien und über die Hilfsmittel, welche die Rekonstruktion der zerlegten Form erleichtern. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 3.
—, **87.** Über die Methoden der plastischen Rekonstruktion. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 4.
Strelzoff, Z., **73.** Über die Histogenese der Knochen. Unters. a. d. pathol. Institut Zürich. Leipzig.
Ströbe, H., **93.** Zur Technik der Achsenzylinderfärbung im zentralen und peripheren Nervensystem. Zentralbl f. allgem. Path. u. path. Anat. IV. p. 49—57.
Tandler, J., **01.** Mikroskopische Injektionen mit kaltflüssiger Gelatine. Zeitschr. f. wissensch. Mikr. Bd. 18.
Tappeiner, H., **90** und **99.** Lehrbuch der Arzneimittellehre und Arzneiverordnungslehre. Leipzig 1890, 3. Aufl. 1899.
Teichmann, L. K., **53.** Über Kristallisation der organischen Bestandteile des Blutes. Zeitschr. f. rationelle Medizin. Bd. 3.
Teljatnik, T., **97.** Zur Technik der Marchischen Färbung des Zentralnervensystems. Neurolog. Zentralbl. Nr. 11. p. 521.
Tellyesniczky, K., **98.** Über die Fixierungs- (Härtungs-) Flüssigkeiten. Arch. f mikr. Anat. 52. Bd. p. 202—247. T. 14.
—, **02.** Fixation im Lichte neuerer Forschungen. Ergebnisse der Anat. und Entwicklungsgeschichte von Merkel und Bonnet. Bd. 11.
—, **04.** Aufkleben der Zelloidinschnitte. Anat. Anz. Ergänzungsheft zum 25. Heft.
v. Thanhoffer, 77. Über die Entzündung nebst einigen Bemerkungen über die Struktur der Hornhaut und über die Eosin-Reaktion. Zentralbl. d. med. Wiss.
Thoma, R., **91.** Eine Entkalkungsmethode. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. 8. Bd., p. 191—192.
Tillmanns, H., **74.** Beiträge zur Histologie der Gelenke. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 10.

Unna, P. G., **91.** Notiz, betreffend die Tänzersche Orceinfärbung des elastischen Gewebes. Monatshefte f. prakt. Dermatolog. XII. Bd., p. 394—396.

—, **98.** Der Nachweis des Fettes in der Haut durch sekundäre Osmierung. Monatshefte f. prakt. Dermatologie. Bd. XXVI, p. 601—613, 2 T.

Virchow, R., **47.** Die pathologischen Pigmente. Virch. Arch. Bd. 1.

—, **50.** Einige neue Beobachtungen über Knochen- u. Knorpelkörperchen. Verh. d. Physik.-med. Ges. Würzburg. Bd. 1, p. 192—197.

Waldeyer, W., **82.** Untersuchungen über die Histogenese der Horngebilde, insbesondere der Haare und Federn. Beiträge zur Anat. u. Embryol. als Festgabe f. J. Henle. Bonn.

Weigert, C., **78.** Bismarckbraun als Färbemittel. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 15.

—, **81.** Zur Technik der mikroskop. Bakterienuntersuchungen. Virchows Archiv. Bd. 84.

—, **85.** Über Schnittserien von Zelloidinpräparaten des Zentralnervensystems zum Zwecke der Markscheidenfärbung. Zeitschrift f. wiss. Mikr. Bd. 2, p. 490—495.

—, **91.** Zur Markscheidenfärbung. Deutsch. med. Wochenschr. Nr. 42, 9 p.

—, **94.** Technik. Ergebnisse der Anatomie und Entwickelungsgeschichte. Bd. 3.

—, **95.** Beiträge zur Kenntnis der normalen menschl. Neuroglia. Festschr. zum fünfzigjähr. Jubiläum des ärztl. Ver. zu Frankfurt a. M.

—, **96.** Die Golgische Methode. Forts von **94.** Ebenda Bd. 5.

—, **97.** Die Markscheidenfärbung Ebenda B. 6.

—, **98.** Die Marchische Methode. Ebenda Bd. 7.

—, **98.** Über eine Methode zur Färbung elastischer Fasern. Zentralbl. f. allg. Path. Bd. 9, p. 289—292.

—, **04.** Eine kleine Verbesserung der Hämatoxylin-van Gieson-Methode. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 21.

Weismann, A., **61.** Über das Wachsen der quergestreiften Muskeln nach Beobachtungen am Frosche. Zeitschr. f. ration. Med. 3. Reihe. Bd. 10, p. 263—284.

Westphal, E., **80.** Über Mastzellen. Inaug.-Diss. Berlin.

Whitman, C. O., **88.** The eggs of amphibia. American Naturalist. Vol. 22.

Wicklein, E., **89.** Experimenteller Beitrag zur Lehre vom Milzpigment. Inaug.-Diss. Dorpat.

Wissozky, N., **77.** Über das Eosin als Reagens auf Hämoglobin etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 13.

Wolters, M., **90.** Drei neue Methoden zur Mark- und Achsenzylinderfärbung mittels Hämatoxylin. Zeitschr. f. wiss. Mikr. Bd. 7.

Woronin, 98. Eine neue histologische Methode. Arbeiten aus der therapeutischen Klinik von P. M. Popoff. Moskau. (Russisch.)

Zenker, K., **94.** Chromkali-Sublimat-Eisessig als Fixierungsmittel. München. med. Wochenschr. Jahrg. 41, p. 532—534.

Ziegler, H. E., **02.** Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena.

Ziegler, P., **99.** Ein Beitrag zur Technik der histologischen Untersuchung des Knochens. Festschrift zum 70. Geburtstag v. Kupffers. p. 49—52.

Zimmermann, A., **95.** Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wiss. Mikr. Leipzig und Wien.

Zimmermann, K. W., **98.** Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 52, p. 552—706.

AUTOREN-REGISTER.

§§

Abbe 242, 324.
Afanassiew 231.
Alexander 245.
Altmann 24, 140, 256, 257, 258, 259, 516, 517, 523, 536, 734, 737.
Apáthy 87, 93, 147, 150, 151, 164, 187, 188, 193, 197, 219, 224, 230, 489.
Argutinsky 152.
Auerbach 564.
Azoulay 346, 499.

Balfour 60.
Ballowitz 629.
Balter 452.
Barfurth 423, 652.
Barlow 688.
Bartel 503.
Bastian 407.
Behrens F. 577.
Benda 202, 254, 605, 633.
Beneden, siehe Van Beneden.
Beneke 371.
Berkley 586.
Bethe 456, 488.
Biedermann 550.
Biondi 233, 291, 308, 310, 527, 562, 576, 596.
Blanc 640.
Blochmann 95.
Blum 66.

§§

Böhm 573, 580, 607, 643, 713.
Böhmer 188, 189, 190, 226, 229, 547.
Bonnet 719.
Born 123, 141, 235, 239, 240, 243, 245, 420, 653.
Boveri 636.
Bowman 406.
Brandt 98.
Braus 575.
Bremer 443.
Buzzi 692.
Bütschli 255.

Cajal Ramon y 480, 485, 490, 499, 573, 719, 751, 764.
Carnoy 65, 255.
Carrière 713.
Chilesotti 472.
Chrzonszczewsky 571, 604.
Coccius 271.
Cohnheim 322, 407, 410, 441.
Cohnstein 283.
Cornil 728.
Corning 486.
Corti 756, 758.
Cox 468, 477, 607.
Czokor 184.

Daddi 347.
Davidoff, v. 607.
Dejerine 502.

§§
Delafield 190, 223, 228, 250, 468.
Descemet 727.
Dogiel 455, 750.
Dreser 752.
Duval 86, 738.

Eberth 610.
Ebner, v. 371, 389, 399, 424, 538.
Edinger 35.
Ehrlich 161, 191, 204, 233, 291, 301, 302, 303, 305, 307, 308, 310, 324, 537, 552, 562, 576, 596, 750.
Enderlen 514.
Engel 324.
Engelmann 12, 439.
Erlicki 29, 31, 34, 491, 494, 497.
Ewald 267, 268, 287, 316, 322, 340, 383, 420, 549, 627.

Ferria 701.
Fick 628, 651, 652.
Fischer, A., 24, 26, 33, 41, 66, 67, 169. 259.
Fischer, E., 221, 442, 443.
Flechsig 500.
Flemming 24, 40, 42, 45, 46, 47, 206, 207, 250, 251, 252, 253, 259, 335, 346, 372, 387, 417, 423, 466, 499, 519, 520, 530, 531, 549, 560, 562, 587, 588, 596, 619, 631, 633, 642, 652, 665, 677, 688, 698, 723, 754, 760.
Fleischl 436.
Flesch 363.
Flinser 271.
Fol 46.
Forel 471.
Foster 60.
Franke 645, 654.
Freeborn 331.
Frey 188.
Friedländer 191.
Frommann 430, 432, 473.
Froriep 402, 418.

Gad 452.
Gasser 59.
Gaule 140.

§§
Gerlach 470, 471, 474, 578.
Germer 286.
Giannuzzi 537.
Gierke 234.
Giesbrecht 73.
Gieson, siehe Van Gieson.
Gilson 65.
Goldscheider 718.
Golgi 66, 446, 449, 475, 476, 478, 479, 481, 482, 502, 532, 537, 545, 563, 607, 751, 764.
Gram 211, 250, 632.
Grandry 706, 711.
Grawitz 324.
Greef 752.
Grenacher 229, 306.
Grosser 515.
Grünwald 309.
Gscheidlen 313.
Gudden, H., 482, 496.
Günther 477.
Gulland 140.
Gurwitsch 200.

Häcker 259, 635.
Hällstén 322.
Halliburton 437.
Hamburger, H., 12.
Hammer 249.
Hannover 28.
Hansen 193, 330, 354, 362, 506, 519, 527, 557.
Hassal 598.
Haug 365, 375.
Hayem 286.
Heidenhain, M., 169, 196, 199, 206, 233, 234, 238, 251, 252, 253, 269, 287, 418, 424, 537, 576, 637.
Heidenhain, R., 197, 229, 233, 234, 291, 310, 531, 546, 555, 562, 596, 606.
Heilmeyer 494, 570.
Helbing 95.
Helly 57.
Henle 435, 602.
Henneguy 145.
Hensen 684.
Herbst 706, 711.

§§
Hermann 24, 47, 66, 219, 250, 259, 630, 632.
Hertwig, O., 648.
Herxheimer 347.
His 238, 245, 521.
Hoehl 342.
Holmgren 322, 470.
Hoyer 552.

Jackson 343.
Jacobson 28.
Jordan 94.
Joseph 719.
Jung 97.

Kaes 498.
Kahlbaum 254.
Kahlden, v. 223, 375.
Kaiser 166.
Kaiserling 286.
Kallius 484.
Kann 609.
Kastschenko 238, 245.
Key 20.
Klaatsch 398.
Kleinenberg 60, 192.
Koch v., G., 381.
Koch, L., 103.
Kockel 319.
Kölliker, v., 392, 393, 436, 439, 536, 592.
Kolossow 276, 277, 278.
Kopsch 469, 482, 575, 642.
Kostanecki 637.
Krause, C., 271.
Krause, R., 199, 233, 576.
Krause, W., 406, 747, 748.
Krönig 165.
Kronecker 15.
Kronthal 485, 486.
Krysiński 90.
Kühne 340, 415, 416, 433, 444, 561, 752.
Kultschizky 202, 423, 497, 498.
Kupffer, v., 437, 513, 566, 573, 578, 579, 580, 581, 582.

Lakhart 156.
Lang 51, 55.
§§
Langendorff 595.
Lanterman 427, 428.
Lea 561
Leber 732.
Ledermann 692, 719.
Lenhossék 470, 502.
Lepkowsky 390.
Lo Bianco 56.
Löwenbach 719.
Loewenthal 35.
Löwit 442, 443, 445, 710, 719.
London 609.
Ludwig Ferdinand, Dr., Prinz von Bayern 711.
Lundvall 363.

Maas 558, 559.
Mall 341, 523, 584.
Mallory 195, 332.
Marchi 495, 499, 501, 502.
Markovitin 455.
Martinotti 701.
May 309.
Mayer, P., 51, 60, 143, 144, 178, 181, 182, 183, 186, 187, 193, 194, 204, 207, 209, 213, 217, 552, 739.
Mayer, S., 487.
Mays 268, 287.
Meißner 564, 706, 707, 708, 710.
Mercier 57.
Merkel 86, 540, 577, 704, 723.
Meves 259, 284.
Michaelis 146.
Minot 113.
Moleschott 419.
Müller, E., 545, 576.
Müller, H. F., 291, 324.
Müller, H., 24, 29, 30, 34, 57, 223, 335, 346, 347, 373, 475, 476, 478, 491, 495, 497, 499, 501, 504, 531, 575, 684, 687, 691, 701, 703, 721, 744, 754, 759.
Muschenkoff 447.

Nabias 454.
Neelsen 91, 318.
Negro 451.
Neumayer 95.

§§
Neyt 252, 255.
Nikiforoff 301.
Nißl 201, 466, 467, 502.
Nowak 664.
Nuel 728.

Oberhäuser 242.
Obersteiner 502.
Obregia 149.
Oppel 525, 574, 583.

Pacini 706, 714.
Pal 202, 476, 494, 495, 499, 501, 632.
Partsch 306.
Perényi 27, 62, 608.
Peter 240, 245.
Petit 16.
Pfitzner 158, 206.
Plehn 311.
Pleuge 20.
Podwissotzki 206, 417.
Politzer 759.
Pollack 502.
Pouchet 738.
Prichard 407, 713.
Purkinje 235, 426, 470, 504.
Purkyně, siehe Purkinje.
Prudden 190.

Rabl, C., 61, 62, 64, 184, 228, 250, 470, 740.
Rabl, H., 346, 610.
Ranvier 14, 97, 262, 270, 274, 326, 388, 391, 408, 409, 412, 414, 426, 427, 430, 432, 442, 445, 450, 513, 518, 532, 585, 589, 606, 730, 731, 733, 734, 745, 757, 763.
Rath, vom, 47.
Ratkowski, 692, 719.
Rauber, 663.
Rawitz 222.
Reichert 312, 418.
Reinke 67, 145, 251.
Remak 438, 760.
Renaut 598.
Retzius 20, 389, 407, 756.
Riese 484.
Ripart 16.
Rivet 98, 112.
Röse 216, 381, 397.

§§
Rollett 316, 329, 406, 407, 410, 415, 729.
Rosenthal, W., 347.
Rothe 579.
Rouville, de, 19.
Rudneff 37.
Rückert 613.

Samassa 68.
Sauer 608.
Schaffer 61, 331, 346, 369, 399, 423, 477.
Scheibe 759.
Schiefferdecker 86, 91, 696.
Schmaus 472.
Schmorl 378.
Schneider 144.
Schuberg 218, 695.
Schultze, M., 13, 28, 37, 159, 263, 294, 462.
Schultze, O., 198, 399, 617, 647, 651, 677, 680, 700.
Schulze, F. E., 37, 592.
Schwalbe, E., 280.
Schwann 434.
Schweigger-Seidel 601.
Seligmann 752.
Semon 653.
Sharpey 389, 391, 392. 393.
Siedlecki 637.
Sihler 452.
Sobotta 681.
Solger 110, 253, 349, 402, 536, 738.
Spalteholz 341, 343.
Spee, Graf, 78, 389.
Spuler 185.
Stintzing, 547.
Stöhr 450, 700.
Stork 638.
Stoss 127.
Strasser 241, 243, 245, 653.
Streiff 235.
Strelzoff 396.
Ströbe 475.

Taenzer 336, 699.
Tandler 514.
Tappeiner, v., 28.

§§
Teichmann 314.
Teljatnik 501.
Tellyesniczky 23, 27, 32, 152.
Thanhoffer, v., 290.
Thoma, 98, 324, 376.
Thomé 110.
Tonkoff 216.

Unna 193, 336, 346, 468, 699, 738.
Urban 136.

Van Beneden 252, 255.
Van Gieson 223.
Vater 706, 714.
Virchow, H., 642.
Virchow, R., 315, 394.

Waldeyer 184, 693.
Weigert 66, 112, 116, 136, 148, 149, 201, 202, 209, 215, 225, 318, 319, 334, 335, 357, 470, 489, 491, 492, 493, 494, 495, 497, 502, 506, 527, 557, 594, 699, 719.
Weil 381.
Weismann 412, 413.
Welch 137.
Westphal 306.
Whitman 649.
Wicklein 528.
Wissozky 290.
Wolters 498.
Woronin 277, 278.

Zachariadés 341.
Zenker 57, 619, 665, 723.
Ziegler, P., 365.
Zimmermann, K. W. 545.
Zinn 309.

SACH-REGISTER.

A. §§

Ablösung des Eiweißes . . 144
Absoluter Alkohol . . . 74
Abtupfen von Schnitten . 137
Abziehen d. Rasiermessers 7
Abziehen des Mikrotom-messers 109
Aceton 24
Achsenzylinder . . . 436, 472
Adenoides Gewebe 338, **521** ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 285
Alaunkarmin 177
Alaunkarmin-Dahlia . . . **306**
Alkanna 550, 692
Alkohol absolutus 74
Alkoholfixierung **25**
Alkohol 1/3 (Ranvier) . . 262
Alkoholhärtung 18
Alkoholische Boraxkarmin-lösung 180
Alkoholtabelle 19
Alkoholverdünnung 19
Altmanns Gefriermethode . 257
» Granulamethoden 256 ff.
Altmannsche Korrosions-methode **516**, 737
Alveoläres Bindegewebe . 340
Amöboide Bewegung . . 293
Amphibieneier 613, 616, 645 ff.
Anilinblau für Knochen . 388
Anilinblau (Ströbe) . . . 475
Anilinfarben, siehe Teer-farben.

Apáthys Goldmethode . . §§ 489
Aqua Javelli . . 494, 516, 650
Areoläres Gewebe . . . 337
Argentum nitricum . . . 270
Ascaris megalocephala . . 252
Atmungsorgane . . . 587 ff.
Atropin 533
Auerbachscher Plexus . . 564
Aufhellungsmittel für Zelloidinpräparate . . . 136
Aufkleben . . . . . 138 ff.
von Zelloidinschnitten 148 ff.
nach Apáthy . . 150, 151
» Argutinsky . . 152
» Michaelis . . . 146
» Obregia 149
» Weigert 148
von Paraffinschnitten 140 ff.
mit Alkohol 140
» Eiweiß 144
» Eiweiß-Wasser . . 145
» Farblösung . . . 143
» Kollodium-Rizinusöl 241
» Traumatizin etc. . 256
» Wasser 143
von Zelloidin-Paraffin-schnitten 147
Aufspannen der Nerven 431, 437
Aufspannen von Darm-stücken 543
Auge . . . . . 721 ff.
Außenzone des Pankreas . 562
Auswaschen . . . 28, 34, 171

§§

Automatische Mikrotome . 113
Azoulays Markscheidenfärbung 499

B.

Bänderschneiden . . . 78, **128**
Basische Teerfarben **204**, 206 ff.
Bauchspeicheldrüse . . 561 ff
Becherzellen . . . . . 552 ff.
Befruchtung, künstliche 639, 646
Belegzellen . . . . . 544 ff.
Bendasche Hämatoxylinfärbung 633
Benzoazurin 144
Berlinerblau, Herstellung . 513
» Imprägnation 487, 732
» Leim . . . 513
» Reaktion . . 528
Bezeichnung der Schnittreihenfolge 139
Bindegewebe . . . . **325 ff.**
Bindegewebsfärbung 330 f., 557 ff.
Bindegewebe der Leber 578 ff.
Vergoldung 578
Dichromsaures Silber 580, 583
Pinselmethode 584
Verdauung 584
Verhalten gegen Reagenzien 341
Bindegewebsknorpel . . . 362
Biondi-Ehrlichs Dreifarbgemisch **233, 291**
Bismarckbraun 209
Bleu de Lyon . . . **216**, 397
Blut . . . . . 279 ff.
» -Gefäße . **506**, 568, 595, 600
» -Körperchen . . . 279 ff.
Blutkörperchenzählapparat 324
Blutkreislauf . . . . 320 ff.
Blutkristalle . . . . . 312 ff.
Blutplättchen 285
Böhmersches Hämatoxylin 188
Bonnetsche Hämatoxylinmethode 719
Boraxkarminlösung, wässerige 179
Boraxkarminlösung, alkoholische 180
Borns Plattenmodelliermethode . . . . . 239 ff.

§§

Borns Wärmtischchen . . 141
Brüten 663

C.

Chloralhydratlösung . . . 748
Chloroform für Paraffindurchtränkung 73
Chorioidea 737
Chromameisensäure . . . 63
Chromatin 44, 248
Chrom-Essigsäuregemisch 642, 651, 652
Chrom-Osmiumessigsäuregemisch **42**, 45, 46
Chromsäure . **28, 265**, 373, 641
Chromsaurer Ammoniak (neutral) 606
Chromsaures Silber, siehe dichromsaures Silber.
Chrzonszczewskys Methoden 571, 604
Cochenille-Alaun . . 184, 185
» -Tinktur 183
Cornea . . . . . **725 ff.**
Cortisches Organ 758
Cox Granulafärbung . . . 468
Cox Sublimatfärbung . . 477
Cutis . . . . . 339, **698 ff.**

D.

Dahlia-Alaunkarmin . . . 306
Dammarharz 158
Darm . . . . 530 ff., 542 ff.
Dauerpräparate von Blutkörperchen . . 287, 296 ff.
Deckgläschen 2
Deckglaspräparate 297
Definierflächen 238
Delafields Hämatoxylin . 190
Descemetsches Endothel 727 f.
Dichromsaures Kalium, siehe Kalium bichromicum.
Dichromsaures Silber 478 ff., 525, 573 f., 580, 583, 586
Doppelfärbungen . . . 212 ff.
Doppelmesser . . . . 8 f.
Doppeltchromsaur. Kalium, s. Kalium bichromicum.

§§
Drüsen . . 533 ff., 534 ff., 588
Durchtränkung . . . . 69 ff.
» langsame . 75
» s-Schema . 95

E.

Eau de Javelle 494, 516, 650
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 371
Ehrlich-Biondische Färbung . . . **233**, 291, 310, 537
Ehrlichs Hämatoxylin **191**, 564
Ehrlichsche Granula . . 302 ff.
Eier . . . . . 612 ff., 634 ff.
» von Wirbellosen . . 635
» » Fischen 613, 616, 638 ff.
» » Amphibien 613, 616, 645 ff.
» » Reptilien 613, 616, 654 ff.
» » Vögeln 613, 663 ff.
» » Säugetieren 614 f., 617 f. 672 ff.
Eierstock . . . 611 ff., 619 ff.
Eileiter . . . . . 622 f.
Einbetten . . . . . 84 f.
Einbetträhmchen . . . 84, 240
Einschließen . . . . 154 ff.
Einschließen von Knochenschliffen . . 386 ff.
Einschlußmassen . . . 155 ff.
Einspannen 116
Einstichinjektion 518
Eisenhämatoxylin **199**, 200, 225
Eisennachweis 528
Eisessig, siehe Essigsäure.
Eiweiß (aufkleben) . . . 144
Eiweiß-Injektionsmasse . . 515
Eiweißkörper 24
Eiweißlösende Reagentien 144
Elastische Fasern der Cutis 699 ff.
» » » Lunge 593 f.
Elastische Netze 507
Elastischer Knorpel . . 356 ff.
Elastisches Gewebe . . 333 ff.
Eleidintropfen 692
Embryologische Technik 634 ff.
Endokard 505
Endothelien . . . . . 270 ff.
Entkalken . . . . . 364 ff.

§§
Entkalkungsflüssigkeiten.
Alkohol-Salpetersäure . . 376
Chromsäure 373
Ebnersche Entkalkungsflüssigkeit 371
Flemmingsche Lösung . 372
Konzentrierte Pikrinsäure **368**, 755
Müllersche Lösung . . 373
Phlorogluzin mit Salzsäure 375
Pikrin- und Salpetersäure 368
Pikrinsäure, konzentr. **368**, 755
Salpetersäure . . **369**, 755
Salzsäure 366
Salzsäure-Chromsäure . 367
Schweflige Säure . **365**, 755
Eosin **221** ff., 231, 289 f., 303 f.
Eosinophile Zellen . . . 303
Epidermiszellen 689
Epithelien . . **260** ff., 340, 548
Epithelien der regio olfactoria 762
Epithelien der regio respiratoria 761
Erhitzen der Blutpräparate 301
Erlickische Flüssigkeit . . 31
Erwärmbarer Objekttisch . 294
Erythrozyten . . . . . 279 ff.
Erythrosin 470
Essigsäure 24, 32, 42 ff., 57, 327, 330 f., 334, 440, 555, 643
Essigsaures Kalium . . . 159

F.

Fällungskraft d. Fixierungsmittel 24
Färbetechnik, Einübung 174 ff.
Färbung . . . . . 168 ff.
Färbemethoden.
Alaunkarmin 177
» -Dahlia . . **306**
Alkoholische Boraxkarminlösung 180
Anilinblau 388, 475
Anilinfarben, siehe Teerfarben.
Azoulays Markscheidenfärbung 499

Färbemethoden.	§§
Bendas Hämatoxylin	633
Benzoazurin	144
Berlinerblau	513
Biondi-Ehrlich, s. Ehrlich-Biondi.	
Bismarckbraun	209
Bleu de Lyon	**216**, 397
Böhmers Hämatoxylin	188
Boraxkarminlösung, wässerige	179
Boraxkarminlösung, alkoholische	180
Cochenille-Alaun	184
Dahlia-Alaunkarmin	306
Delafields Hämatoxylin	190
Doppelfärbungen	212 ff.
Ehrlich-Biondische Färbung	**233**, 291, 310
Ehrlichs Hämatoxylin	191
Eisenhämatoxylin	199
Eosin	**221** ff., 231, 289 f., 303 f., 396
Erythrosin	470
Friedländers Hämatoxylin	191
Fuchsin	**210**
Fuchsin S. 223, 232, 233, 256, 308, 330, 331, 335, 358, 523	
Gentianaviolett 211, 250, 251, 632	
van Giesonsche Färbung	223
Glychämalaun	194
Goldmethoden, s. diese.	
Golgis Methoden, s. diese.	
Gramsche Methode 211, 632	
Grenachersche Karmine	177, 180
Hämalaun (P. Mayer)	186
Hämatoxylin, s. dieses.	
Hämatoxylin-Eosin	222 f.
Hämatoxylin-Indigokarmin	217
Hämatoxylin-Orange G.	226
Hämatoxylin-Pikrinsäure	**220**, 347
Hämatoxylin-Safranin	228
Hansens Bindegewebsfärbung	330
Hansens Hämatoxylin	193

Färbemethoden.	§§
M. Heidenhains Hämatoxylin	199
R. Heidenhains Hämatoxylin	197
Indigokarmin 217, 571, 604, 704	
Indulin	303 f.
Karmin-Bleu de Lyon	216
Karminfärbung, s. diese.	
Karmin-Hämatoxylin	396
» -Indigokarmin	217
Kernfärbung	171 ff.
Kleinenbergs Hämatoxylin	192
Kongorot 547, 558 ff.	
Kultschitzkys Hämatoxylin	497 f.
Magenta, s. Fuchsin.	
Mayer, P., Glychämalaun	194
» » Hämalaun	186
» » Karmalaun	178
» » Muchämateïn	554
» » Muzikarmin	553
» » Parakarmin	182
Mehrfachfärbungen	212 ff.
Methylenblau 274, 307, 308 467, 468, 532, 552, 750	
Methylgrün 208, 231, 232, 233 255, 396	
Methylgrün-Eosin	231
Methylgrün-Fuchsin S.	232
Methylgrün-Fuchsin S. Orange	**233**
Methylviolett	388
Muchämateïn	554
Muzikarmin	553
Neutraler Farbstoff	308
Nigrosin	331
Nißls Hämatoxylinfärbung	201
Orange 226, 233, 251, 303	
Orzëin	**336**, 527, 557
Osmiumsäure	38
Palsche Hämatoxylinfärbung	494
Pikrinsäure 206, 223, 256	
Pikrokarmin 214, 215	
Pikromagnesia-Karmin	213
Pikronigrosin	331

§§
Färbemethoden.
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin **206,** 228, 251, 252, 253
» -Gentianaviolett. 632
Safranin-Indigokarmin . 219
» -Pikrinsäure . . 220
Schneiders Karmin . . 144
Schnittfärbung . . . 173 f.
Stückfärbung . . . . 173 f.
Sublimat . . . . . 476 ff.
Sudan III 347
Tabelle der Mehrfachfärbungen 234
Taenzer-UnnascheOrzëinfärbung 336
Teerfarben, siehe diese.
Thionin . . . 207, 466, 552
Triazidgemisch 233
Urankarmin 472
Versilberungsmethoden, siehe diese.
Wässerige Boraxkarminlösung 179
Weigert, elastische Fasern **335**
» Fibrinfärbung . 318
Weigerts Hämatoxylin 491 ff.
Färbetechnik, Einübung . 174
Färbung . . . . . 168 ff.
Färbung durch Fixationsmethoden 168
Färbung durch Osmiumsäure 38, 168
Farbgläser 176
Fett . . . . . 344 ff., 499
Fettimprägnation 517
Fettponceau 347
Fettresorption . . . . . 549 ff.
Fettzellen . . . . . 344 ff.
Fibrillen der Muskeln . 404 ff.
» des Nerven . . 437
» der Sehne . . 329 ff.
Fibrinfärbung . . . . 317 ff.
Fischeier . . 613, 616, 638 ff.
Fixationsmethoden . . . 21 ff.
Afanassiewsche Flüssigkeit 285
Alkoholfixierung . . 25 ff.
Carnoysche Flüssigkeit . 65

§§
Fixationsmethoden.
Chloralhydratlösung . . **748**
Chromameisensäure . . 63
Chromessigsäure 642, 651, 652
Chromosmiumessigsäure 42, 45, 46
Chromsäure . . **28,** 373, 641
Doppeltchromsaures Kalium 29
Erhitzen der Blutpräparate 301
Erlickische Flüssigkeit . 31
Flemmingsche Lösung **42, 45,** 650
Folsche Mischung . . . 46
Formol **66,** 647
Gefrieren . . 17, 20, 110, 257
Gilsonsche Flüssigkeit . 65
Hermanns Gemisch . 47, 632
Kaliumbichromat-Essigsäure 32
Kalium bichromicum . . 29
Lysol 67
Merkelsche Flüssigkeit . 723
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure . . 258
Müllersche Flüssigkeit . 30
Osmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Osmiumtetroxyd **37** ff., 273, 287, 296, 346, 408, 429, 431, 437, 745.
Perényische Flüssigkeit **62,** 608
Pikrinessigsäure . . . 659
Pikrinosmiumessigsäure . 48
Pikrinosmium-Platinchlorid-Essigsäure . . 49
Pikrinsäure **59,** 220, 223, 256, 368, 523
Pikrinsalpetersäure . **60,** 368
Pikrinschwefelsäure **60,** 656, 665, 675
Pikrinsublimat 61
Pikrinsublimatosmiumsäure 50
Platinchloridlösung . **63,** 250
Platinchlorid-Osmiumsäure-Eisessig . . 47, 632
Platinchloridsublimat . . 64
vom Rathsche Gemische **48, 49, 50**
Salpetersäure **58,** 248, 273, 665, 744.

§§

Fixationsmethoden.
Salpetersäure-Silbernitrat 273, 669
Sauersche Flüssigkeit . 608
Sublimat **51** ff., 248, 300, 670
» -Alkohol . . 54
» -Blutpräparate 300
» -Chromsäure . 56
» -Eisessig . . 643
» -Kochsalz . **53,** 300
Trockenpräparate . . . 298
Trocknen 17, 20
Überosmiumsäure, siehe Osmiumtetroxyd.
Zenkersche Flüssigkeit . 57
Fixierungsflüssigkeiten . . 21 ff.
Flächenhafte Rekonstruktion 236, 238
Flechsigsche Methode . . 500
Flemmingsche Flüssigkeit 42, 45
Flimmerepithelien 260
Folsche Mischung 46
Form zum Einbetten . . . 84
Formaldehyd, siehe Formol.
Formol . . . 20, 24, **66,** 647
Friedländers Hämatoxylin 191
Frische Organe . . . **1,** 260
Frommannsche Linien 430, 432, 473
Fuchsin **210**
Fuchsin S. 223, 232, 233, 256, 308, 330, 331, 335, 358, 523

G.

Galle 282, 752
Gallenkapillaren.
Färbung . . . 570, 576, 577
Injektion 569
Selbstinjektion 571
Silbermethode 573, 574, 575
Ganglienzellen . . . . 657 ff.
Gedehnter Muskel . . . 408
Gefäße . . . . . 506 ff.
Gefrierapparat 110
Gefrieren 17, 20, 110
Gefriermethode Altmanns . 257
Gehirn . . . . . 457 ff.
Gelatine, kaltflüssige . . 514
Gelatinekarminlösung . . 512

§§

Geldrollen-Anordnung der roten Blutkörperchen . 279
Gentianaviolett . 211, 251, 632
» neutrales . 251
Gerlachsche Goldmethode 474
Geschlechtsorgane . . 611 ff.
Geschmacksknospen . . . 532
Giannuzzische Halbmonde 537
van Giesonsche Färbung . 223
Glatte Muskelfasern . . 418 ff.
Glychämalaun 194
Glykogen 356, 585
Glyzerin . 135, 154, **155, 159**
Goldchlorid 443
Goldchloridkalium . 446, 474
Goldmethoden . . . . 441 ff.
Apáthysche G. 489
Böhmsche G. 713
Cohnheimsche G. . . . 441
Gerlachsche G. . . **474,** 578
Golgische G. 446
Kühnesche G. 444
v. Kupffers G. . . 578, **582**
Lepkowskysche G. für Knochen 390
Löwit-Fischersche G. . . 443
Muschenkoff 447
Nabias 454
Ranviersche G. 445
Rollettsche G. f. Muskeln 407
Stöhrsche G. 450
Golgische Goldmethode . 446
Golgische Sublimatmethode 476
Golgis Silbermethoden . 478 ff.
Golgis Nervenendorgane . 449
Gramsche Methode . . . 632
Grandrysche Körperchen 711 ff.
Granula der Ganglienzellen 466 ff.
Granulamethoden Altmanns . . . . . 256 ff.
Granulierte Wanderzellen 302 ff.
Graphische Isolierung . . 238
Grenachersche Karmine 177 ff.

H.

Haare . . . . . 702 ff.
Hämalaun (P. Mayer) 175 ff., **186**
Hämatoidinkristalle . . . 315

§§

Hämatoxylin.
Apáthy 187
Benda 633
Böhmer 188
Bonnet 719
Delafield 190
Ehrlich 191
Friedländer 191
Hansen 193
Heidenhain, M. . . 196, 199
Heidenhain, R. 197
Hermann 632
Kleinenberg 192
Kultschitzky . . . . . 497 f.
Mallory 195
Mayer, P. (Glychämalaun) 194
» » (Hämalaun) . 186
» » (Muchämateïn) 554
Nißl 201
Pal 494
Schultze, O. 198
Weigert . . . . 225, 491, 492 ff.
Hämatoxylin-Eosin . . . 221 f.
» -Färbung . 174 ff. 186 ff., 189
» -Fuchsin S.-Pikrinsäure . . 225
» -Indigokarmin 217
» -Kongorot 547, 558
» -Orange G. . 226
» -Pikrinsäure . 220
» -Rubin-Ammoniumpikrat . 224
» -Safranin . . 228
Häminkristalle 314
Hämoglobin 280
» -Kristalle . . 312 f.
Härtung 18, 20
Halbeintrocknung Ranvier 326
Hansens Bindegewebsfärbung 330, 527, 557
» Hämatoxylin . . 193
Harnblase . 4, 260, 424, 609
Harnkanälchen . . . 601 ff.
Hartgebilde . . . . . 382 ff.
Hauptzellen 546
Haut . . . . . 687 ff.
Heber nach Mays . . . 268

§§

Heidenhain, M., Hämatoxylinfärbung 199
Heidenhain, R., Hämatoxylinfärbung 197
Heizbarer Objekttisch . . 294
Henlesche Scheide . . . 435
Herbstsche Körperchen 711 ff.
Hermannsches Gemisch 47, 632
Herz . . . . . 504 ff.
Herzmuskel . . . . . 425 ff.
Hissche Pinsel- u. Schüttelmethode 521
Hoden . . . . . 630 ff.
Höllenstein 270
Hollundermark 6, 295
Holzessig 47, 564
Hornhaut . . . . . 725 ff.
Hornhautkörperchen . . 730 ff.
Hornspongiosanetze . . . 433
Hornsubstanz . . 340, 690 ff.
Humor aqueus 11
Hyaliner Knorpel . . . 350 ff.
Hydrargyrum bichloratum s. Sublimat.
Hydrochinon 484

I.

Indifferente Lösungen . . 10 ff.
Indigokarmin 217, 571, 604, 704
Indulin . . . . . 306 f.
Injektionsverfahren . . . 512
Injektion der Blutgefäße 511 ff.
Injektion der Blutgefäße der Leber 568
Injektion der Blutgefäße der Niere 600
Injektion der Gallenwege 569
Injektionsmassen . . . 512 f.
Injizieren von Fixationsflüssigkeit 542
Innenzone des Pankreas . 562
Instrumente für Sublimat . 51
» » Versilberung 272
Interzellularbrücken 276 f., 423
Jodfärbung 356
Jod-Jodkalium 14
Jodserum, M. Schultze . 13, 263
Iris 736

Isolationsmittel	§§
261 ff., 404 f., 459 ff., 599 f.	
Abhebern	267, 268
Alkohol, Ranvier **262**, 267, 426, 459, 461, 606, 742, 761 ff.	
Ammonium bichromicum	266
» monochromat.	426
Barytwasser	329
Chloralhydrat	748
Chromsäure **265**, 404, 436, 463	
Erhitzen im Sandbad .	415
Essigsäure	405
Jodserum . . . **13**, 263, 462	
Kalilauge 413, 419, 425, 507, 603	
Kalium bichromicum . . **266**, 436, 464	
Kalkwasser . . . 329, 729	
Magensaft	405
Natronlauge	507
Neutrales chroms. Ammoniak	606
Osmiumsäure 264, 459, 465, 548	
Rauchende Salpetersäure	418, 602
Salizylsäure	418
Salpetersäure . . 418, 602, 741	
Salzsäure	405, 601
Schwefelsäure	416
Trypsin	340 ff.
Übermangansaures Kalium	729
Weinsäure	507
Zentrifuge	269
Jungsches (Thoma) Mikrotom	98 ff.
K.	
Käfermuskeln	406
Kaiserscher Maskenlack .	166
Kalilauge 328, 334, 413, 419, 425, 507, 603	
Kaliumbichromat-Essigsäure	32
Kalium bichromicum . **29**, 266	
Kalkreaktion	540
Kanadabalsam	157 f.
Kapillaren	511
Karmalaun	178
Karminfärbung	**177** ff.
Alaunkarmin	177
Boraxkarmin, alkoh. . .	180

Karminfärbung.	§§
Boraxkarmin, wässer. .	179
Cochenille-Alaun . . .	184
n. Forel	471
n. Gerlach	471
Grenachersche Karmine	177, 180
P. Mayerscher Karmalaun	178
P. Mayers Muzikarmin .	553
P. Mayers Parakarmin .	182
Schmaus' Urankarmin .	472
Karmin-Bleu de Lyon **216**, 397	
» -Hämatoxylin . .	396
» -Indigokarmin . .	217
» -Osmium-Holzessig .	218
» -Pikrinsäure . . .	220
Karminleim	512
Karyokinesen	248 ff.
Kehlkopf	587 ff.
Keimbläschen	613
Keimepithel	621
Keimzentren	520
Kephalopoden-Knorpel . .	355
Keratohyalinkörner . .	692 f.
Kern	247 ff.
Kernfärbung . . 171 ff., 186 ff., 206 ff.	
Kernteilungen	248 ff.
Klassifikation d. Teerfarben	204
Kleinenbergs Hämatoxylin	192
Knochen	364 ff.
Knochenkörperchen Virchows	394
Knochenmark . . . 380 f., 529	
Knochenschliffe . . .	384 ff.
Knorpel	350 ff.
Kochsalzlösung physiologische	12
v. Kochsche Methode . .	381
Kockels Fibrinfärbung . .	319
Kohlensaurer Ammoniak .	402
Kollodiumdurchtränkung .	86
Kolloidreaktionen	597
Kolloidsubstanz	597
Kongorot . . . 547, 558, 559	
Konservierung	22
Konservierungs-, siehe Fixationsmethoden.	

Kontrahierter Muskel . . 408
Korrektion der Überfärbung 172, 189
Korrosionspräparate 516
Kreuze Ranviers . . 321, 458
Kristallhaltige Blutkörperchen 316
Kristallviolett 254
Krönigscher Lack 165
Kroneckersche Flüssigkeit 15
Kronthals Schwefelblei . 485
Kühlmesser 127
Kühnesche Goldmethode . 444
» Netze 433
» Trypsenverdauung 340
Künstliche Befruchtung . 639
Kultschitzkys Mark-Methode . . . . . 497 ff.
Kupferoxyd-Hämatoxylin . 633
Kurare 321

L.

Labyrinth des Menschen 759 f.
Lävulose 161
Laichzeit 638, 645
Lantermannsche Segmente 427 f.
Leber . . . . . 565 ff.
» Bindegewebe . . 578 ff.
» Gallenkapillaren . 570 ff.
» Glykogen 585
» Nerven 586
» Sternzellen . . 579, 581
Lebersche Berlinerblaumethode 732
Leberzelle 566
Lepkowskys Methode . . 390
Leukozyten . . . . . 292 ff.
Linse . . . . . 740 ff.
Linsenfasern . . . . 741 f.
Lösung des Eiweißes . . 144
Lösungsmittel für Silbernitrat 273
Löwit-Fischersche Goldmethode 443
Lunge . . . . . 590 ff.
» Respiratorisch. Epithel 592
» Elastische Fasern . 593 f.
Lymphdrüsen . . . . 519 ff.
Lymphe . . . . . 279 ff.
Lymphnoduli . . . 520, 560
Lymphspalten-Fettimprägnation . 517
» -Einstichinjektion 518
Lysol 67

M.

Magen . . . . . 542 ff.
Magenta, siehe Fuchsin.
Mallsche Methode . . . 523
Marchis Methode . . . 501 f.
Markhaltige Nervenfasern 427 ff., 491 ff.
Marklose Nervenfasern . . 438
Martinottische Methode . 701
Mastzellen 305
Material für Muskelvergoldung 448
P. Mayers Karmin . 178, 182
» » Hämalaun . . 186
Mays' Heber 268
Media der Gefäße 507
Mehrfachfärbungen . . . 173, 212 ff., 234
Meißnersche Körperchen 707 ff.
Meißnerscher Plexus . . 564
Merkelsche Flüssigkeit . . 723
Mesenterium 1, 4, 270, 274, 421
Messer für Mikrotome 108 f., 118
Messerhalter 100
Messerschlitten 98, 99
Messerstellung . 118, 127, 128
Methylenblau . . . 274, 307 f. 455, 467, 468, 488, 532, 552, 750
Methylenblaufixation 455, 486
Methylgrün . . 208, 231, 232, 233, 255, 396
» -Eosin 231
» -Fuchsin S. . . 232
» » » Orange 233, 291, 310
Methylviolett 388
Mikrometerschraubenschlitten . . . . . 105 f.
Mikrotom . . . . . 96 ff.
Automatisches M. . . . 113
Jung (Thoma-Rivet-Brandt) M. . . . . 98 ff.

§§

Mikrotom.
Ranviers M. 97
Reinhold-Giltays M. . . 113
Schanzes(Rivet-Weigert) M. 112
Milz . . . . . 519 ff.
Mitochondria 254
Mitosen . . . . . 248 ff.
Modellieren . . . . . 239 ff.
Molybdänsaures Ammonium, Fixierung 455, 456
Molybdänsaures Ammoniak-Chromsäure 258
Motorische Nervenendigungen . . . . . 440 ff.
Muchämateïn 554
Müllersche Fasern . . . 751
» Flüssigkeit . **30**, 373
Mukosa 543
Mundhöhlenschleimhaut . 530
Muschenkoffs Goldmethode 447
Muskelfibrillendarstellung 404 f.
Muskeln . . . . . 400 ff.
Muskelscheibendarstellung 405
Muskel und Sehne . . 412 ff.
Muzikarmin 553
Muzin 552, 555
Myelintropfen 428
Myokard 425

N.

Nase . . . . . 760 ff.
Natriumhypochlorid . . . 649
Natürliche Färbung . . . 168
Neapler Wasserbad . . . 82
Nebenniere 610
Negros Methode 451
Nelkenöl . . . 135, 154, 175
Nerv . . . . . 427 ff.
Nerven der Epidermis . 717 f.
Nerven der Leber 586
Nervenendigungen 440 ff., 706 ff.
Nervenfasern . . . . 427 ff
Nervenfibrillen 437
Netzknorpel . . . 352, 356 ff.
Neurogliafärbung 502
Neutrale Teerfarben . . . 204
Niere . . . . . 599 ff.
Nigrosin 331
Nißls Hämatoxylinfärbung 201

§§

Nißlsche Körperchen . 460 ff.
Noduli 520, 560
Nuelsche Methode . . . 728

O.

Objektschlitten . . . 98, 102
Objektträger 2
Öle 73, 91
Ölen des Mikrotoms . . . 115
Oesophagus 541
Ohr . . . . . 753 ff.
Omentum 1
Orange 226, 233, 251, 252, 253, 303.
Orientieren 85
Orientierungsapparat . . . 103
Origanumöl 91, 136
Orzeïn . . . **336**, 527, 557, 594
Osmiumsäure, s. Osmiumtetroxyd.
Osmiumtetroxyd **37** ff., 273, 287 296, 346, 408, 429, 431, 437, 745
Osmiumtetroxyd als Isolationsmittel 264
Ossifikation 395
Ovarien . . . 611 ff., 619 ff.

P.

Pacinische Körperchen . 714 ff.
Palladiumchlorür 513
Palsche Hämatoxylinfärbung 494
Pankreas . . . . . 561 ff.
Papillen der Zunge . . 531 f.
Paraffin . . . . . **69** ff., 163
Paraffinbefreiung . 132 ff., 153
Paraffin-Kanadabalsam . . 164
Paraffindurchtränkung . 72 ff.
Paraffinlösende Flüssigkeiten 73
Paraffinsorten 77
Paraffin, überwärmtes . . 78
Paraffinum liquidum 68, 160, 311
Parakarmin 182
Parallelfaseriges Bindegewebe 325
Perényische Flüssigkeit **62**, 608
Perikard 505
Pflasterepithelien 260
Phlorogluzin 375

§§

Photoxylin 90, 755
Physiologische Kochsalzlösung **12**, 260
Physiologische Selbstinjektion 571, 604
Pigmentzellen . . . 4, 168, 253
Pigmentzerstörende Mittel 738 f.
Wasserstoffhyperoxyd . 738
Nascierendes Chlor . . 739
Pikrinessigsäure 659
Pikrinosmiumessigsäure . 48
Pikrinosmiumplatinchlorid-Essigsäure 49
Pikrinsäure **59**, 220, 223, 256, 368, 523
Pikrinsalpetersäure, P. Mayer **61**, 368
Pikrinsaurer Ammoniak . 455
Pikrinschwefelsäure, Kleinenberg . **61**, 656, 665, 675
Pikrinsublimat 61
Pikrinsublimatosmiumsäure 50
Pikrokarmin 215
Pikromagnesiakarmin . . 213
Pikronigrosin 331
Pilokarpin 533
Pinselmethode 521
Plastische Rekonstruktion 239 ff.
Platinchloridlösung, Rabl 63
» Osmiumsäure Eisessig . . . 47, 632
Platinchloridsublimat . . 64
Plattenmodelliermethode 239 ff.
Plumbum aceticum . . . 485
» formicicum . . 486
Prichardsche Lösung . . 713
Progressive Färbung 172, 203
Projektive Rekonstruktion 238
Protoplasmastrukturen 251, 252 253
Purkinjesche Fäden . . . 426
Pyrogallussäurereaktion . 540

Q.

Quecksilberchlorid, siehe Sublimat.
Quergestreifte Muskeln . 400 ff.
Querstellung des Mikrotommessers 128

§§

R.

Ramon y Cajals Modifikation 480
Ranviers $^1/_8$ Alkohol . . 262
Ranviersche Einschnürungen . . . 427 ff.
» Goldmethode 445
Ranviers Kreuze 430
» Mikrotom . . . 97
Rasiermesser . . . . . 6 f.
vom Raths Gemische 48, 49, 50
Regressive Färbung . 172, 203
Regulator, s. Thermoregulator.
Reifen des Hämatoxylins . 193
Reifen des Ammoniakkarmins 214
Rekonstruktionsmethoden 235 ff.
Remaksche Fasern . . . 438
Reptilieneier . 613, 616, 645 ff.
Respirationsorgane . . 587 ff.
Respiratorisches Epithel . 592
Retikuläres Gewebe 338, **521** ff.
Retikuliertes Gewebe (Mall) 523
Retina . . . . . 743 ff.
Richtebene 240
Richtfläche 238, 240
Richtleisten 238, 240
Richtlinie 240
Rillentrog 176
Ripart und Petits Flüssigkeit **16**
Rippenknorpel 359
Rolletts Goldmethode . . 407
Rote Blutkörperchen . 279 ff.
» » auf Schnitten . . . . . 288 ff.
Rote und weiße Muskeln . 409
Rubin S., siehe Fuchsin S.
Rückenmark . . . . . 457 ff.

S.

Säugetiereier 614 f., 617 f., 672 ff.
Safranin . . . **206**, 228, 251
» -Anilinwasser . . 632
» Gentianaviolett . 632
» -Indigokarmin . . 219
» Pikrinsäure . 206, 220
Salpetersäure **58**, 248, 273, 369, 418, 602, 741, 744

§§

Salpetersäure-Silbernitrat 273, 669
Salzsäure 366
» -Chromsäure . . 367
Sarkolemma . . . . . 401 f.
Sarkoplasma 411
Saure Teerfarben 204
Schaltstücke 538
Schanzes Mikrotom . . . 112
Scharlach R. 347
Scheide 625
Schema für Weiterbehandlung des Paraffinschnitts 167
Schema für Durchtränkung 95
Schilddrüse . . . . . 596 f.
Schlaffer Muskel 408
Schleifen . . . . . 384 ff.
Schleimdrüsen . . . . 552 ff.
Schleimfärbung . . . 552 ff.
Schlittenmikrotome . . . 96
Schlußleistennetz 199
Schmeckbecher . . . 531 f.
Schmelzpunkt des Paraffins 76
Schnecke . . . . . 756 ff.
Schneiden brüchiger Objekte 94
Schneiden mit dem Gefriermikrotom 131
Schneiden mit dem Rasiermesser . . . . . 6 f.
Schneiden mit dem Doppelmesser 9
Schneiden mit d. Mikrotom 122 ff.
Schneiden von Zelloidinpräparaten 130
Schneiders Karmin . . . 144
Schnittdicke . . . . . 105 ff.
Schnittfärbung 173
Schnittstrecker 123
Schrumpfung bei Fixierung 23
Schüttelmethode 521
Schultzesches Jodserum **13,** 263
Schutzleisten der Deckgläschen 614
Schwannsche Scheide . . . 434
Schwefelbleifärbung . . . 485
Schweflige Säure . . **365,** 755
Sehne . . . . . 325 ff., 340
Sekretkapillaren . . 537, 545
Selbstinjektion der Gallenkapillaren 571

§§

Sensible Nervenendigungen 706
Serienschneiden 132
Sharpeysche Fasern 389, 391 ff.
Sihlersche Methode . . . 452
Silbermethoden **270** ff., 339, 430 432, 478, 519, 525, 545, 580, 583, 586, 592, 607, 730, 751, 764
Silbermethode am Spirituspräparat 525, 583
Silbernitrat für Cutis . . 339
Silbernitratgelatine . . . 518
Sklera 735
Speichelröhren . . . . 539 f.
Spermatozoen . . . . 626 ff.
Stechapfelform der roten Blutkörperchen 280
Sternzellen . . 579, 581, 582
Stöhrsche Goldmethode . 450
Strassersche Klebemasse 241, 653
Stratum corneum 690
» granulosum . . . 692
» lucidum 691
» spinosum . . 694 f.
Ströbes Achsenzylinderfärbung 475
Stückfärbung 173
Stützgewebe des Darms 557 ff.
Sublimat . . **51,** 248, 300, 670
Sublimatalkohol 54
Sublimatchromsäure . . . 56
Sublimat-Eisessig . . 55, 643
Sublimat-Kochsalzlösung **53,** 300
Sublimatkristalle 51
Sudan 347
Sympathicus 438

T.

Tabelle der Durchtränkungsdauer 79
Tabelle der Mehrfachfärbungen 234
Tabelle der Termini technici 246
Tabelle zur Alkoholverdünnung 19
Taenzer-Unnasche Orzeïnfärbung 336
Tastscheiben . . . . 719 f.

§§

Teerfarben 203 ff., 206 ff., 212 ff.
Anilinblau . . . 388, 475
Bismarckbraun 209
Bleu de Lyon . . **216,** 397
Dahlia . . . 305, **306,** 353
Eosin . . 221 f., 231, 289 f. 303 f., 396
Erythrosin 470
Fuchsin **210**
Fuchsin S. 223, 232, 233, 256, 308, 330, 331, 335, 358, 523
Gentianaviolett 211, 251, 252, 253, 632
Indulin 303, 304
Kongorot . . 547, 558, 559
Magenta, s. Fuchsin.
Methylenblau 274, 307, 308, **455,** 467, 468, 532, 552, 750
Methylgrün 208, 231, 232, 233, 255, 396
Methylviolett 388
Nigrosin 336
Orange 226, 233, 251, 252, 253, 303
Rubin S., s. Fuchsin S.
Safranin **206,** 228, 251, 252, 253
Thionin . . 207, 466, 552
Teichmannsche Hämin-kristalle 314
Termini technici 246
Thermoregulator 83
Thermostat . . . . . 82 f.
Thionin 207
Thomasche Entkalkungs-flüssigkeit 376
Thoma-Zeißscher Blutkör-perchen-Zählapparat . 324
Thymus 598
Thyreoidea . . . . . 596 f.
Töten der Tiere 3
Toluol 73
Trachea . . . . . 587 ff.
Triacidgemisch 233
Trockenpräparate 298
Trocknen 17, 20
Trocknen von Kanadabalsam 157
Trypsinverdauung **340** ff., 522, 559, 696
Tube . . . . . 622 f.

§§

U.

Überfärbung 172
Überosmiumsäure, siehe Os-miumtetroxyd.
Überwärmtes Paraffin . . 78
Umdrehungswert der Mikro-meterschraube des Jung-schen Miktrotoms . . . 105
Umrandung . . . 155, **162** ff.
Umrandungsmassen . . 163 ff.
Unna (-Taenzer)sche Orzeïn-färbung 336
Unterchlorigsaures Natron 494
Urankarmin 472
Ureter 609
Uterus 623

V.

Vagina 625
Van Giesonsche Färbung . 223
Vasculosa 736
Vatersche Körperchen . 714 ff.
Verdauungsmethode **340** ff., 522, 559, 696
Verdauungsorgane . . 530 ff.
Verdauungsstadien . . . 533
Vergoldung 390, 407, **441** ff., 474, 489, 532, 564, 578, 582, 713, 719 f., 733
s. auch Goldmethoden.
Verkalkter Knorpel . . . 359
Versilberung, siehe Silber-methoden.
Versteinerungsmethode . 381
Vogeleier . . . . 613, 663 ff.

W.

Wachspapierplatten . . . 243
Wasseraufkleben 143
Wasserfreier Alkohol . . 74
Wärmtischchen 141
Wässerige Boraxkarmin-lösung 179
Weichteile des Knochens . 379
Weigerts Färbung elasti-scher Fasern **335,** 527, 557, 594

§§

Weigertsche Fibrinfärbung 318
» Hämatoxylinmethoden . . . . . 491 ff.
Weigerts Neurogliafärbung 502
Weiße Blutkörperchen . 292 ff.
Weiße Muskeln 409
Weiterbehandlung des Schnitts . . . . . 132 ff.
Schema hierfür 167
Winkel zum Einbetten 84, 240
Woltersche Methode . . 498
Wurzelscheiden der Haare 703

X.

Xylol 73, 153

Z.

Zählapparat für Blutkörperchen 324
Zähne . . . . 364 ff., 389 ff.
Zeit für Paraffindurchtränkung . . . . . 79 f.
Zellbrücken . . . 276 f., 423
Zelle . . . . . 247 ff.
Zellengranula Altmanns 256 ff.
Zelloidin . . . . . 69 ff.
Zelloidindurchtränkung 71, 86, 89 ff.
Zelloidin-Löslichkeit . . . 91
» -Paraffindurchtränkung . . . . . 92 ff.
Zelloidinschnitte, Aufkleben . . . . . 148 ff.
Zenkers Gemisch 57
Zentrifuge 269
Zentrosomen . . 251, 253, 632
Zotten 551
Zupfen 5, 326
Zusatzflüssigkeiten . . 10 ff.

F. Sartorius, Göttingen (Hann.)

Werkstatt für wissenschaftliche Instrumente.

Abt. III.

Aug. Beckers Mikrotome

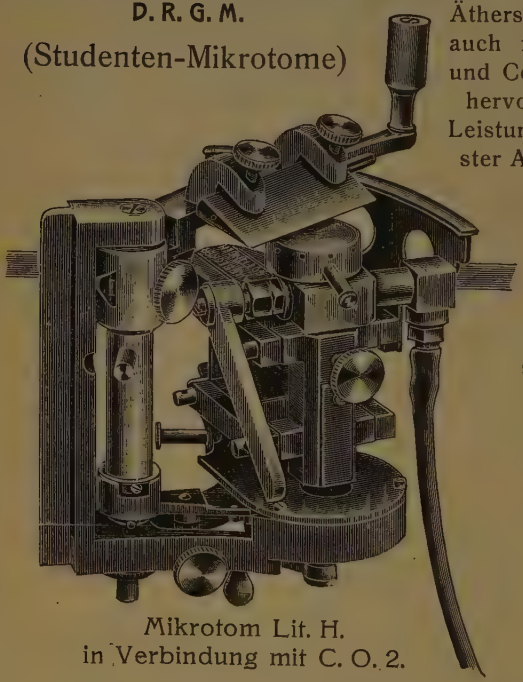
und Nebenapparate.

Gehirn-Mikrotome von bis jetzt nicht erreichter Leistung.

Neueste Gefrier-Mikrotome für Kohlensäure und Ätherspray, sowie auch für Paraffin und Celloidin von hervorragender Leistung u. saubers ter Ausführung.

D. R. G. M.

(Studenten-Mikrotome)



Mikrotom Lit. H.
in Verbindung mit C. O. 2.

Preislisten
(deutsch, englisch und französisch)
gratis u. franko.

Vertreter
an allen größeren Plätzen im In- und Auslande.

(9)

Carl Zeiss, Jena.

Berlin. Frankfurt a. M. Hamburg. London. Wien. St. Petersburg.

Stativ III

mit unserer **neuen Mikrometerbewegung.**

Das Stativ kann zunächst in einfacher Ausrüstung bezogen und später durch Nachbezug des Abbeschen Beleuchtungs-Apparates, des zentrier- und drehbaren Hartgummitisches, des grossen Kreuztisches etc. ohne weiteres

— ergänzt —

werden.

Man verlange Prospekt: **M 2.**

Zeiss-Feldstecher

6 fach
120 Mark.

8 fach
130 Mark.

(5)

D. R. P.

mit gesteigerter Plastik der Bilder.

Man verlange Prospekt: **T 9.**

REMBRANDT-PAPIER

Einziges Spezialpapier, welches von dünnen, flauen, bis fast gänzlich unbrauchbaren Negativen gute bis brillante Kopien gibt.

Kopie auf gewöhnlichem Kopierpapier

Kopie von demselben Negativ auf Rembrandtpapier

Für Anfänger, ebenso bei mikrophotographischen und Röntgenaufnahmen und in allen schwierigen Fällen ein unersetzliches Hilfsmittel.

Rembrandtpostkarten, glänzend u. matt, für flaue Negative.

Fabrik: **Ferdinand Hrdlička, Wien**
VII/3 Zieglergasse 96.

Photo-Papiere-Platten

Marke „VINDOBONA“

Celloidinpapiere, glänzend und matt (4)
Celloidinpostkarten, glänzend und matt
Mattcelloidinpapier für schwarze Platintöne
Bromsilberpapiere, Bromsilberpostkarten
Trockenplatten (Röntgenplatten) höchster Empfindlichkeit
Entwicklungspulver nach Baron Hübl
Collodion, Collodwolle, photogr. Lacke.

Fabrik: **Ferdinand Hrdlička, Wien**
VII/3 Zieglergasse 96.

E. Leitz, Wetzlar

Optische Werkstätte.

Zweiggeschäfte:

Berlin NW., Luisenstr. 45, Frankfurt a. M., Kaiserstr. 64,
New-York, Chicago, St. Petersburg.

Vertretung für München:

Dr. A. Schwalm, München, Sonnenstr. 10.

Mikroskope

(1)

75 000

Leitz-Mikroskope
im Gebrauch.

Mikrotome.

Mikro-photographische
und
Projektions-Apparate.

Deutsche, engl., franz. und russ.
Kataloge kostenfrei.

Bakterien-Mikroskop No. 6

mit 3 Systemen 4,7 und **Oelimmersion, Abbeschem Beleuchtungsapparat,** Vergrößerung 25—1400 linear **140 Mark,** mit Irisblende **150 Mark.**

Universal-Mikroskop No. 5

mit 3 Systemen 4,7 und **Oelimmersion, Abbeschem Beleuchtungsapparat,** Objektiv und Okular-Revolver, Vergrößerung 45—1400 linear **200 Mark,** mit Irisblende **210 Mark.**

Trichinen-Mikroskope

in jeder Preislage. (7)

— Neueste Kataloge und Gutachten kostenlos. —

ED. MESSTER, Berlin NW. 6

:: Gegründet 1859 :: Schiffbauerdamm 18.

M. Schanze, Leipzig

Werkstatt für Präzisions-Mechanik.

Spezialität:

Mikrotome, Messer und Nebenapparate, Instrumente u. Utensilien für Mikroskope.

(6)

Preisverzeichnisse auf Verlangen kostenfrei.

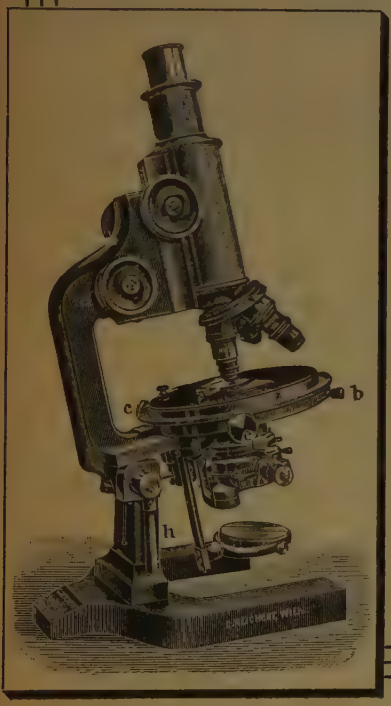
Optisches Institut

C. REICHERT, WIEN

VIII. Bennogasse 24 und 26

Spezialität:

MIKROSKOPE



I. Qualität

Mikrotome

Haemometer

Polarisations-Apparate

Neu:

Photographische Objektive

Combinar: F: 6,3

Solar: F: 6,8

(8)

Kataloge gratis und franko.

R. JUNG, Heidelberg.

MIKROTOME.

Kleines, sogenanntes Studenten-Mikrotom

von M. 28.— an.

Neues Modell B auch für kleine Celloidin-Präparate brauchbar.

Die Herstellung lückenloser Serienschnitte gelingt auch dem Ungeübten mit dem Studenten-Mikrotom sofort.

(2)

Preisverzeichnis kostenfrei.

Optisch-mechanische Werkstatt

E. Hartnack

POTSDAM V

empfiehlt

ihre ***anerkannt*** *vorzüglichen* ***Mikroskope*** *für alle wissenschaftlichen Zwecke, ferner einzelne* ***Objektive, Präparier-Mikroskope, achromatische Lupen*** *mit* ***vollständig planem*** *Gesichtsfeld, Apparate zur Polarisation, zum Nachzeichnen mikroskopischer Präparate, mikrophotographische Apparate.*

Preislisten gratis und franko. (3)

Heinr. Boecker, Wetzlar

Mikroskopisches Institut

Gegründet 1877

liefert

mikroskopische Präparate

aus allen Gebieten

Deckgläser, Objektträger und die meisten Utensilien.

Katalog XX umsonst und postfrei. (10)

Verlag von R. Oldenbourg in München und Berlin.

Aus dem staatlichen Hygienischen Institut in Hamburg.

Zur Ursache und spezifischen Heilung des Heufiebers.

Von Prof. Dr. Dunbar, Direktor des Hygienischen Institutes.

Preis Mk. 3.—.

Theorie und Praxis der Trinkwasser-Beurteilung.

Von Dr. Gustav Kabrhel, o. ö. Professor der Hygiene, Vorstand des hygienischen Institutes der böhmischen Universität und der staatlichen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Prag.

V und 234 Seiten. Preis geb. Mk. 5.—.

Verlag von R. Oldenbourg in München und Berlin.

Aus dem Staatlichen Hygienischen Institut in Hamburg.

Leitfaden

für die

Chemische Untersuchung von Abwasser

von

Dr. K. Farnsteiner, Dr. P. Buttenberg,

Dr. O. Korn,

Chemiker am Hygienischen Institut zu Hamburg.

Preis M. 3.—.

Die Frage der Beseitigung und der Reinigung städtischer und industrieller Schmutzwasser gewinnt von Jahr zu Jahr an Bedeutung; es ergibt sich hieraus in zahlreichen Fällen die Notwendigkeit, diese Abwasser sowohl in rohem Zustande, als auch nach erfolgter Reinigung einer chemischen Untersuchung zu unterwerfen.

Eine sachgemäfse Untersuchung der Abwasser ist keine leichte Aufgabe. Während die Methoden zur Untersuchung von Trinkwasser als hochentwickelt gelten können und in trefflichen Werken eine zusammenfassende Darstellung und Würdigung erfahren haben, herrscht auf dem Gebiete der Abwasseruntersuchung noch eine gewisse Unsicherheit. Manche für die Untersuchung von reinem Wasser brauchbare und wertvolle Methoden und Reaktionen können, ohne Kritik auf Abwasser angewendet, unrichtige oder geradezu falsche Ergebnisse liefern. Es kommt hinzu, dafs einige Methoden in den Laboratorien der verschiedenen Länder in so abweichender Form ausgeführt werden, dafs die Ergebnisse untereinander gar nicht vergleichbar sind.

Auf Anregung des Herrn Direktors des Hamburger staatlichen Hygienischen Institutes, Professor Dr. Dunbar, unternahmen es die Verfasser, in oben angekündigtem Werke, auf Grund der im Hamburger Institute gesammelten Erfahrungen die Methoden der Abwasseruntersuchung zu sichten und in kurzer, aber auch dem Fernstehenden verständlicher Form zusammenzufassen.

COUNTWAY LIBRARY
HC 2MSW R

3.J.97.
Taschenbuch der mikroskopischen1904
Countway Library BDK9385
3 2044 045 421 609

3.J.97.
Taschenbuch der mikroskopischen1904
Countway Library BDK9385
3 2044 045 421 609